

Е.В.ЗИГАЛО, Т.В.МАЙКОВА, Н.Г.ГРАВІРОВСЬКА, О.В.КОВАЛЬОВА

*Інститут гастроентерології АМН України, Дніпропетровськ; Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України, Запоріжжя***КОРЕЛЯЦІЙНІ ПАРАЛЕЛІ В ОПТИМІЗАЦІЇ ДІАГНОСТИКИ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ**

Досліджено 45 хворих з ураженням печінки вірусом гепатита С та алкоголем на фоні мікроелементозів. Була виявлена високо вірогідна позитивна кореляція між активністю фіброгенезу, визначеного за допомогою ультразвукового дослідження, та показниками компонентів екстрацелюлярного матриксу, обрахованими із застосуванням імуноферментного методу (ламініл, тканинні металопротеїнази 2 і 9 та інгібітори тканинних металопротеїназ). Застосування неінвазивних методик дозволяє диференціювати фіброз1-2 від фіброзу 3-4.

**Ключові слова:** фіброз печінки, екстрацелюлярний матрикс, мікроелементози

**Вступ.** Різні етіологічні чинники, у тому числі й віруси, що викликають пошкодження печінки, в більшості випадків задають старт фібротичним змінам в печінці. При латентному перебігу хронічного гепатиту С за даними різних авторів в 3-25 % випадків відбувається морфологічна перебудова тканини печінки аж до розвитку її фіброзного заміщення. До чинників, що підсилюють прогресування фіброзу, окрім рівня віремії (понад  $2 \times 10^6$ /мл) і ступенів фіброзу у момент інфікування, належать алкоголізм і наркоманію [3]. Встановлено, що вживання алкоголю є чинником ризику в розвитку цирозу печінки, незалежно від наявності вірусної гепатотропної інфекції. Споживання алкоголю в дозах понад 50 мл щодня приводить до швидкого прогресування фіброзу, який супроводжується підвищенням вірогідності розвитку цироза печінки і гепатоцелюлярної карциноми [5, 6].

Фіброгенез в печінці – широко поширений і універсальний процес, основу якого складає надлишкове накопичення протеїнів позаклітинного матриксу й тканинних колагеназ, основним джерелом яких є зірчасті клітини печінки. У просторі Дісе формується патологічний колагеновий матрикс, який заважає нормальному обміну речовин між кров'ю синусоїдів та гепатоцитами. Фіброз в початкових стадіях характеризується зворотністю процесу, але після утворення фіброзних септ, які не мають клітин, стає кінцевим. Фактори активації зірчастих клітин синтезуються в гепатоцитах, а також в тромбоцитах і лімфоцитах. Активовані зірчасті клітини – головні продуценти екстрацелюлярних матричних компонентів, таких, як колаген I, III і IV типів, фібронектин і ламінін, а також матричних металопротеїназ (ММП) – роду цинк-залежних ендопептидаз, які відіграють провідну роль у перетворенні екстрацелюлярного матриксу. Визначають три основні групи металопротеїназ: колагенази, желатінази й стромолізини. Протеолітична активність металопротеїназ (ММП) може бути інгібована тканинними інгібіторами металопротеїназ (ТІМП) – групою білків, які також продукуються зірчастими клітинами. Здатність активованих зірчастих клітин до секреції як ММП, так і

ТІМП визначає їх провідну роль у виробленні фіброзної тканини та в її порушенні [7].

За сучасними уявленнями, розвиток фіброзу не можна пояснити тільки надлишковою продукцією компонентів позаклітинного матриксу, скоріше воно пов'язане з порушенням рівноваги процесів утворення і деградації компонентів позаклітинного матриксу. Сам по собі фіброз печінки не є ознакою цирозу. Цироз – дифузний процес, що поєднує фіброз, вузлову трансформацію паренхіми і фіброзних септ, які з'єднують порталну систему із системою печінкових вен [9].

Сучасний етап розвитку гепатології характеризується поступовим відходом від традиційно прийнятого морфологічного методу дослідження тканини печінки, отриманої в результаті біопсії. Незважаючи на те, що морфологічна оцінка дозволяє оцінити локалізацію і поширеність фібротичного процесу, широке впровадження біопсії печінки в клінічну практику спеціалізованих відділень обмежується наявністю декількох проблем: відсутністю нормативних документів, що регламентують проведення маніпуляції; браком кваліфікованих морфологів, здатних об'єктивно описати і дати кількісну оцінку морфологічним ознакам; інвазивним характером процедури і потенційним ризиком розвитку ускладнень, які безпосередньо пов'язані з досвідом лікаря, що виконує біопсію печінки. Не менш важливою є і проблема морфологічної інтерпретації змін в тканині печінки. Далекі від досконалості запропоновані системи напівкількісної оцінки індексу гістологічної активності і ступеня фіброзу у хворих із хронічним гепатитом. Широко доступні для визначення в клінічній практиці сироваткові амінотрансферази не відображають ступінь тяжкості гістопатологічних змін в печінці. Серологічні методи діагностики вірусних гепатитів не визначають рівень і ступінь фіброгенезу. В даний час не існує спеціальних тестів для точного визначення проміжних стадій фіброзу. Вищезазначені обставини послужили вагомою підставою для впровадження в клінічну практику неінвазивних методів діагностики фіброзу печінки [1, 2].

У підґрунті біохімічних діагностичних тестів для визначення ступеня вираженості фіброзу знаходяться методи визначення молекулярних сполук, які беруть участь в патофізіології процесу створення екстрацелюлярного матриксу або є активаторами фіброгенезу. Найбільш вивченим є зрісттрансформуючий фактор, колаген IV типу (IV-C), амінотермінальний пропептид III проколаген (P III P), гіалуронова кислота, ММП і ТІМП. Модель діагностики ґрунтується на наявності балансу між процесами фіброгенезу й фібролізу. Основними медіаторами регулювання є ММП і ТІМП. Залежно від переважання активності однієї з цих двох груп медіаторів порушується рівновага процесів синтезу і деградації екстрацелюлярного матриксу. Сама діагностика ґрунтується на визначенні компонентів, що входять до складу екстрацелюлярного матриксу, і продуктів, що отримуються в результаті його розпаду в сироватці крові.

Дослідження Y. Murawaki та I. Shimizu із співавторами довели високу діагностичну значимість концентрації ММП і ТІМП у диференціюванні фіброзу I-II стадії від III-IV стадії [3-9].

**Мета дослідження.** Оцінити компоненти екстрацелюлярного матриксу з метою вивчення можливостей даної методики в комплексній оцінці фіброзу печінки і ступеня активності у хворих на хронічний гепатит різної етіології на фоні виявленого мікроелементозу.

**Матеріали і методи.** У завдання дослідження входила оцінка діагностичної точності методики дослідження компонентів екстрацелюлярного матриксу на різних стадіях фіброзу печінки за даними УЗД в результаті кореляційного аналізу.

Критеріями бальної оцінки фіброзу печінки за даними УЗД печінки були: "0" – відсутність змін паренхіми печінки; "1" – накопичення дрібновогнищевих структур підвищеної ехогенності, переважно в перипортальній зоні; "2" – рівномірне накопичення в паренхімі дрібновогнищевих різнощільних структур до 1/2 максимуму; "3" – паренхіма щільна за рахунок середньовогнищевих структур високої амплітуди (до 1/2-2/3 максимуму). За наявності ознак портальної гіпертензії – цироз.

Обстежено 25 пацієнтів на хронічний гепатит С (ХГС), які склали I групу, у віці від 24 років до 61 року, середній вік  $35 \pm 12$  років. Розподіл за статтю: 15 чоловіків, 10 жінок. За генотипом HCV хворі розподілилися таким чином: 15 хворих з 1 генотипом, 10 хворих – з 2 і 3 генотипом вірусу гепатиту С. Вірусне навантаження: у 15 хворих склало  $< 2$  млн. копій/мл, у 10 –  $> 2$  млн. копій/мл. Середній рівень АЛТ =  $1,23 \pm 0,09$  ммоль/л год. До II групи увійшло 20 хворих чоловіків на алкогольний стеатогепатит (АСГ) у віці від 42 до 64 років. Середній рівень АЛТ склав  $1,48 \pm 0,08$  ммоль/л год.

За допомогою імуноферментного аналізу вивчали компоненти екстрацелюлярного матриксу: ламініл, матриксну металопротеїназу (МПП2 та

МПП9), тканинний інгібітор металопротеїназу (ТІМП1).

Слід зазначити, що обмін мікроелементів тісно пов'язаний з печінкою, тому при її патології фоніві мікроелементози можуть значимо впливати на подальшу руйнуючу силу фіброгенезу. Відомо, що цинк як кофермент вміститься у МПП та ендопептидазах. Вивчали насичення заліза сироватки крові трансферином і активність церулоплазміну по методиці Г.А.Бабенко за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра. Також визначали у сироватці крові вміст міді та цинку [4].

**Результати досліджень та їх обговорення.** За даними УЗД у 18 (72,0 %) хворих на ХГС визначався фіброз «1-2», у 2 (8,0 %) – фіброз «0»; у 5 (20,0 %) хворих – фіброз «3». У всіх хворих на АСГ за даними УЗД визначався фіброз «1-2». Визначено, що показник насичення заліза трансферином склав  $0,19 \pm 0,003$  ум.од у хворих на АСГ, у хворих на ХГС –  $0,18 \pm 0,017$  ум.од. У всіх обстежених хворих до надходження у стаціонар відзначали гіпосидеремію. Активність церулоплазміну при гепатитах різної етіології мала тенденцію до збільшення і складала, зокрема при алкогольному стеатогепатиті –  $34,00 \pm 2,62$  ум.од. проти  $17,00 \pm 1,58$  ум.од. у здорових ( $P < 0,001$ ), у хворих на ХГС –  $25,00 \pm 2,05$  ум.од. Вивчення вмісту міді в крові у хворих на ХГС показало, що воно було удвічі більшим, ніж у хворих на АСГ. Рівень цинку характеризувався зниженням у хворих на АСГ до  $55,7 \pm 3,8$  мкг/дл, що у 1,5 рази був меншим ніж у хворих на ХГС ( $P < 0,001$ ). Коефіцієнт залізо/мідь збільшувався у 18 (72,0 %) хворих на ХГС з ознаками фіброзу «1-2» до 2,0; у 5 (20,0 %) хворих з ознаками фіброзу «3» – до 3,1. У всіх хворих на АСГ з ознаками фіброзу «1-2» коефіцієнт залізо/мідь збільшувався до 2,5. Коефіцієнт цинк/залізо зменшувався у хворих на ХГС з ознаками фіброзу «3» та у хворих на АСГ з ознакам фіброзу «1-2» до 1,5, що свідчило про несприятливий перебіг хвороби у цих хворих. Наведені вище дані свідчать про те, що у всіх досліджених хворих на гепатит, незалежно від етіологічного фактору, знижувався вміст заліза і підвищувався вміст міді в крові. Величина цих показників залежала від ступеня тяжкості захворювання і найбільш вираженою була у хворих на ХГС. Також у обстежених хворих рівень церулоплазміну в сироватці крові на висоті захворювання підвищувався, а насичення заліза трансферином сироватки крові знижувалося. У зв'язку з тим, що за даними С.Д. Подимової гіперферемія при ураженні паренхіми печінки наступала значно раніше руйнування гепатоцитів, то вивчені нами показники мають важливе діагностичне значення. Кореляційні зв'язки між ступенями фіброзу і компонентами екстрацелюлярного матриксу у хворих на ХГС представлені на рисунку 1

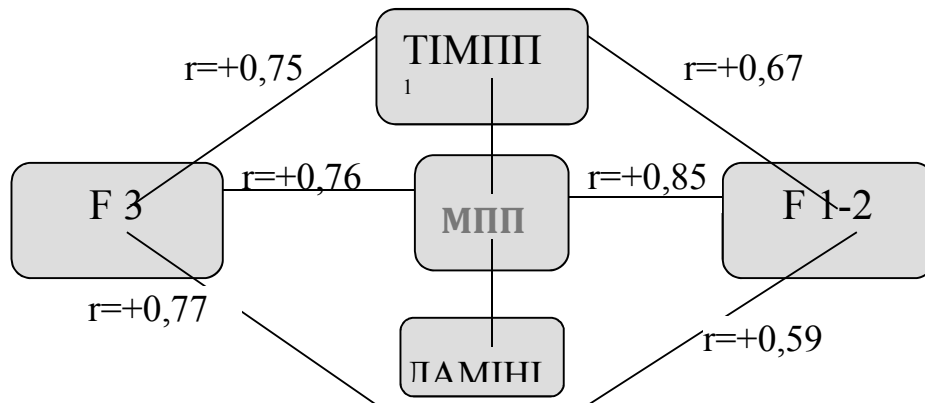


Рис. 1. Кореляції між показниками екстрацелюлярного матриксу та ознаками фіброзу у хворих I групи

Вищенаведений рисунок демонструє високодостовірну позитивну кореляцію між активністю процесів фіброгенезу й такими показниками екстрацелюлярного матриксу, як ламініл та ТІМПІ, що

свідчить про прогресування дисбалансу між процесами фіброгенезу та фібролізу з посиленням у бік першого у хворих на хронічний вірусний гепатит С.

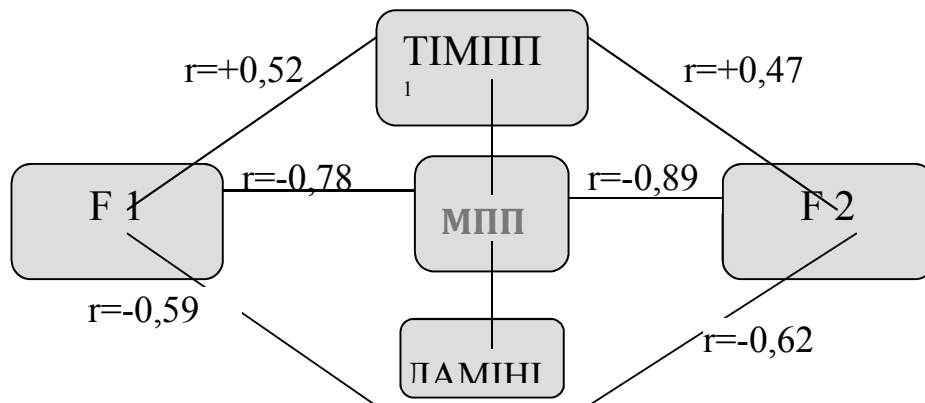


Рис. 2. Кореляції між показниками екстрацелюлярного матриксу та ознаками фіброзу у хворих II групи

У хворих на алкогольний стеатогепатит за рахунок підвищення рівня таких показників екстрацелюлярного матриксу як МПП 2 та МПП 9 та зниження рівня ламінілу до нормальних значень ( $11,5 \pm 1,2$  од/мл) припустима думка щодо деградації екстрацелюлярного матриксу, тобто процеси фібролізу переважають над процесами фіброгенезу (рис. 2). Підтверджуючим моментом цього є виявлений достовірний негативний зв'язок між ознаками фіброзу 1 та 2 ступеня за

даними УЗД та рівнем ламінілу й металопротеїназами (МПП2 та МПП9).

**Висновки.** Таким чином, вивчені нами кореляційні паралелі між компонентами екстрацелюлярного матриксу та ознаками фіброзу за даними ультразвукових досліджень довели, що неінвазивна імуноферментна діагностика фіброзу печінки, яка базується на визначенні показників, які відносяться до складу екстрацелюлярного матриксу дозволяє диференціювати різні стадії фіброзу.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Актуальные вопросы лабораторной диагностики гепатита С / Шкурба А.В., Голубовская О.А // Лабораторная диагностика. — 2007. — № 10. — С. 10—22.
2. Павлов Ч.С. Биопсия печени: методология и практика сегодня / Павлов Ч.С., Ивашкин В.Т. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2006. — Т. XVI, № 4. — С.65—78.
3. Гепатит С як загальномедична проблема / Гураль А.А., Сергєєва В.Ф., Марієвський В.Ф., Шагінян В.Р.: матеріали VII з'їзду інфекціоністів України [«Інфекційні хвороби — загальномедична проблема»]. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. — С. 463—464.
4. Бабенко Г.А. Микроэлементы в экспериментальной и клинической медицине / Бабенко Г.А. — К.:Здоров'я, 1965. — 183 с.
5. Громашевская Л.Л. Нарушения метаболических процессов во внеклеточном матриксе, их регуляции при развитии фиброза печени / Громашевская Л.Л., Пинский Л.Л. // Лабораторная диагностика. — 2004. — № 4. — С. 3—8.

6. Сторожаков Г.И. Патогенетические аспекты фиброгенеза при хронических заболеваниях печени / Сторожаков Г.И., Ивкова А.Н. // Клини. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. — 2009.— № 2.—С.3—10.
7. Павлов Ч.С. Принципы диагностики и подходы к терапии фиброза и цирроза печени / Павлов Ч.С. //Русский медицинский журнал. — 2009.— № 11. — С.62—68.
8. Пинский Л.Л. Показатели железоиндуцированной хемилюминесценции сыворотки крови и гомогената печени у больных хроническим гепатитом С в зависимости от стадии фиброза / Пинский Л.Л. //Лабораторная диагностика. — 2004. — № 2. — С. 22—26.
9. Parsons C.J. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis / Parsons C.J., Takashima M., Rippe R.A. // J Gastroenterol Hepatol. — 2007.— Vol. 22, №1. —P.79—84.

E.V. ZYGALO, T.V. MAYKOVA, N.G.GRAVIROVSKA, O.V. KOVALEVA

*Institute of Gastroenterology of Academy of Medical Sciences of Ukraine, Dnipropetrovsk; Zaporizhya Medical Academy of Postgraduate Education of Ministry of Health Defence of Ukraine, Dnipropetrovsk*

#### CORRELATION PARALLELS IN LIVER FIBROSIS DIAGNOSTICS OPTIMIZATION

The 45 patients with the liver lesion by the hepatitis C virus or alcohol on a background of microelementosis were examined. Reliable highly positive correlation was educed between activity of fibrogenesis, certified by ultrasonography, and the indexes of components of extracellular matrix, registered by immunofermental method (laminil, tissue metalloproteinase 2 and 9 and inhibitors of tissue metalloproteinase). Application of non-invasive methodologies allows to differentiate fibrosis 1-2 from fibrosis 3-4.

**Key words:** liver fibrosis, extracellular matrix, microelementosis

**Стаття надійшла до редакції: 2.05.2011 р.**