

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ В ИНФЕКЦИОННОЙ ГЕПАТОЛОГИИ

ИООО «Синэво», Минск, Беларусь¹,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»²,
Госпиталь Питье Сальпетриер, Париж, Франция³

В работе изложены современные подходы к использованию неинвазивных методов диагностики в инфекционной гепатологии, приводится подробный анализ эффективности их использования при исследовании печени, и описаны их преимущества перед пункционной биопсией. Рассматриваются возможные отклонения и недостатки в использовании различных методов, обсуждается тактика комплексного использования неинвазивных методик: определение стадий фиброза печени на основе сывороточных маркеров (панель FibroTest) и транзистентной эластографии.

В данной работе впервые представлены результаты исследований с использованием неинвазивного метода диагностики патологий печени – применения панели сывороточных биомаркеров FibroTest. Были определены и описаны наличие и стадии фиброзных изменений в печени у пациентов различных групп риска с печеночной патологией, направленных на исследование лечащими врачами с диагностической целью.

По результатам проведенных исследований, а также на основании национальных и международных протоколов диагностики и лечения хронического вирусного гепатита, даны рекомендации к применению различных неинвазивных методов в диагностике патологии печени. С целью совершенствования тактики диагностики различных заболеваний печени, предоставленные рекомендации позволят получить дополнительные клинические данные о состоянии печени, а также могут быть использованы при проведении комплексного обследования с использованием неинвазивных процедур установления морфологических изменений печени.

Ключевые слова: *неинвазивные методы исследования, сывороточные маркеры, эластография, FibroTest, патология печени, фиброз.*

S. E. Glazkova, I. A. Karpov, D. E. Danilau, M. Munteanu

NON-INVASIVE DIAGNOSTIC METHODS OF INFECTIOUS PATHOLOGY

The paper describes the modern approaches to the use of non-invasive diagnostic methods in infectious Hepatology, provides a detailed analysis of the effectiveness of their use in the study of the liver, and describes their advantages to the needle biopsy. The possible deviations and defects in the use of different methods are shown, as well as the tactics of complex use of non-invasive techniques: identification of liver fibrosis stage based on serum markers (FibroTest panel) and transient elastography.

In this study, the results of non-invasive method – the serum biomarkers panel FibroTest – for diagnosing pathologies of the liver is shown for the first time. They have been identified and described the presence and stage of liver fibrosis in patients with various risk of hepatic pathology, sent for the research by their treating physicians for diagnostic purposes.

Based on the results of the research as well as on the basis of national and international diagnostic and treatment of chronic viral hepatitis protocols, recommendations for the use of various non-invasive methods in the diagnosis of liver disease are given. Recommendations described are to improve the approach of various liver diseases diagnostic, , provide additional clinical data on the liver status and can be used to conduct a comprehensive survey using a non-invasive

Key words: *non-invasive diagnostic methods, serum markers, elastography, FibroTest, liver pathology, fibrosis.*

Одной из основных причин смертности во многих странах мира являются хронические заболевания печени. Среди целого ряда причин хронических заболеваний печени специалисты выделяют вирусы гепатита (В, С, D), злоупотребление алкоголем, а также нарушение жирового обмена и сахарный диабет, которые приводят к развитию «неалкогольной жировой болезни печени». Лечение заболеваний печени – процесс длительный и сложный, его успех во многом зависит от того, насколько достоверны результаты диагностики состояния печени.

Для клиницистов, занимающихся лечением парентеральных хронических гепатитов В и С, особенно важно понимать, что без знания морфологической структуры печени, определения стадии фиброза, а также активности воспаления существует высокий риск терапевтических ошибок. Необходимость правильного принятия решения об отмене, отсрочке или немедленной инициации терапии является ключевой в работе с пациентами, инфицированными гепатотропными вирусами.

С целью изучения активности фиброгенеза в печени предложен ряд панелей биохимических показателей (АсАТ, АлАТ, ЩФ, ГГТП, общий билирубин и др.) и острофазных белков (альфа-2-макроглобулин, гаптоглобин, ферритин и др.). Дискриминантные функции, выведенные на базе изменений уровня этих показателей, отражают активность воспалительного процесса в ткани органа и нарушение его синтетической функции и, таким образом, позволяют судить о стадии фиброза.

Большинство сывороточных биомаркеров описаны в протоколах EASL (European Association for the Study of Liver) [12] и предложены для определения стадии фиброза печени, в основном, пациентов с хроническими гепатитами [13, 20, 22, 27]. Первым разработанным и наиболее широко распространенным алгоритмом, объединяющим наиболее оптимальные параметры, является FibroTest (Biopredictive, Франция) [17]. Существуют также и другие алгоритмы, предложенные для диагностики печени у пациентов с гепатитом С [15, 32], коинфекцией с ВИЧ [18, 25] и неалкогольной жировой болезнью печени [3, 14], четыре из которых защищены патентами: FibroMeter (Echosens, Франция), FibroSpectrIII (Prometheus Laboratory Inc., США), ELF (Siemens Healthcare, Германия) и HepaScore (Path West, Австралия).

Алгоритм исследования сывороточных маркеров (например, FibroTest) прост – он представляет собой биохимический анализ крови специфических биомаркеров: АЛТ, ГГТ, общий билирубин, альфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, гаптоглобин. При помощи

уникальной экспертной системы пересчета биохимических показателей крови и биометрических параметров пациента можно получить точную количественную и качественную оценку фиброза и некрвоспалительных изменений в печени по шкале METAVIR. Существует и более комплексный метод (FibroMax, Biopredictive, Франция), основанный на анализе широкого спектра биохимических показателей крови. Данный метод рекомендуется применять в диагностике пациентов группы риска (пациенты с повышенным давлением, избыточной массой тела, резистентностью к инсулину, сахарным диабетом, нарушением метаболизма, злоупотребляющие алкоголем и др.), поскольку, наряду с определением фиброза и некрвоспалительной активностью, алгоритм позволяет диагностировать наличие и степень стеатоза, алкогольного и неалкогольного стеатогепатита. Использование данного исследования в работе с пациентами может быть востребовано врачами – эндокринологами, гастроэнтерологами, кардиологами.

При этом, несмотря на простоту метода FibroTest, существует ряд ограничений, несоблюдение которых может привести к сомнительному результату или его неправильной трактовке. Так, тест не рекомендуется проводить в период острого воспалительного процесса, в процессе лечения: противовирусные препараты могут повлиять на изменение параметров в крови, и, как следствие, полученное заключение может быть недостоверным. Тест назначают до проведения лечения с целью диагностики и принятия правильной терапевтической тактики, а также после проведения терапии для мониторинга течения процесса и контроля над развитием фиброза. В период острой фазы гепатита, при остром гемолизе или внепеченочном холестаза тест не применяется вовсе.

Несмотря на видимое преимущество неинвазивных методов перед пункционной биопсией печени (таблица), именно сочетание двух различных методов исследования (инструментальный и метод определения сывороточных биомаркеров) дает наиболее точный уровень диагностики [8], сопоставимый в ряде случаев с пункционной биопсией. Согласно EASL [12], сочетание алгоритмов FibroTest+ТЭ (транзиентная эластография) является более эффективным при диагностике прогрессирующего фиброза [4, 6, 31].

Проведено множество исследований одновременного применения биомаркеров и ТЭ, преимущественно у пациентов с вирусными гепатитами [4–6, 8–11, 19, 26, 28, 30, 31], а также у лиц с неалкогольной жировой болезнью печени и алкогольной болезнью печени [21, 29]. Определение различной степени фиброза при использовании биомаркеров и эласто-

Таблица. Преимущества и недостатки неинвазивных методов у пациентов с хроническим заболеванием печени

Сывороточные маркеры	Транзиентная эластография (ТЭ)
Преимущества	
Хорошая воспроизводимость тестов. Высокая степень применимости (95%). Доступность (рутинные лабораторные исследования). Хорошо проверены. Не требуют госпитализации.	Широко используемая и хорошо проверенная система. Простая в использовании. Широкая шкала значений (2–75 кПа). Критерии качества хорошо определены. Хорошая воспроизводимость метода. Высокий уровень применения в случае цирроза (AUROC >0,9). Прогностическая ценность.
Недостатки	
Невозможность дифференциации промежуточных стадий фиброза. Уровень применения в случае цирроза ниже, чем у ТЭ. Требуют затрат. Ограничение в применении (гемолиз, воспаление и др.).	Требует соответствующего оборудования. Невозможность дифференциации промежуточных стадий фиброза. Уровень применения (80%) ниже, чем у сывороточных биомаркеров (ожирение, асциты, опыт специалиста). Риск ложноположительных результатов в случае острого гепатита, внепеченочном холестаза, приеме пищи и злоупотреблении алкоголем.

графии было на одинаковом уровне [8, 11, 31], но при определении цирроза печени метод ТЕ показал большую достоверность [4, 6, 11]. Однако, учитывая существенные ограничения применения (риск получения ложноположительных результатов ввиду несоблюдения подготовки или наличия противопоказаний) метода ТЭ (80% против 95% для FibroTest), производительность метода может не учитываться в случае намерения диагностировать патологию печени [31].

Целью исследования было определить наличие и стадию фиброзных изменений в печени у пациентов с использованием неинвазивного метода диагностики патологий печени – панели биомаркеров FibroTest.

Забор крови у пациентов (с показаниями к проведению теста FibroTest: наличие вирусного гепатита, диабета, ожирения, избыточного веса, неалкогольной жировой болезни печени или патологий неясного генеза) осуществлялся в различных регионах страны в период с апреля 2014 по октябрь 2015 гг. Забор крови проводился из локтевой вены с утра натощак, после 8–12-ти часов голодания. Постановка биохимических тестов панели FibroTest осуществлялась согласно требованиям разработчика (www.biopredictive.com) с использованием коммерческих наборов Roche Diagnostic на аппарате Cobas Integra 400 (Roche Diagnostic, Швейцария). Результаты исследований выгружались в уникальное программное обеспечение SILAB (Румыния), после чего окончательная валидация результатов осуществлялась Онлайн при помощи базы данных разработчика (доступ с основного сайта). Статистическая обработка данных выполнялась с использованием пакета программ Excel.

Для проведения анализа были отобраны сыворотки крови 391 пациента (мужчины – 207, женщины – 184) в возрасте 8-66 лет (средний возраст составил 39 лет, из которых детей до 14 лет – 3). Среди всех обследованных у 218 человек (55% случаев) имелся хронический гепатит С, а у 41 (10% случаев) – хронический гепатит В.

Градация стадий фиброза производилась согласно рекомендациям производителя FibroTest: стадия F0 – фиброз отсутствует, стадия F1 – начальный фиброз, F2 – умеренный фиброз, F3 – прогрессирующий фиброз, F4 – цирроз печени. Фиброзные изменения в печени определены у 51% пациентов, у 49,1% было определено отсутствие фиброза (стадия F0 по системе METAVIR). Распределение по стадиям фиброза среди обследованных лиц выглядело следующим образом (рисунок).

Начальная стадия фиброза (стадии F1 и F1-F2) была определена у 82 пациентов (21%); умеренный фиброз (стадия F2) определялся у 26 пациентов (6,6%); прогрессирующий фиброз (стадии F3 и F3-F4) был определен в 12% случаев (47 человек). Наличие цирроза печени было подтверждено для 11,3% (44 пациентов).

Как свидетельствуют полученные данные, только в 49,1% случаев было определено отсутствие фиброза, тогда как степень интенсивности повреждения печени во многом зависит и от этиологии патологии:



Рисунок. Распределение по стадиям фиброза среди обследованных лиц (n = 31).

среди исследованных лиц были представители групп риска по вирусным гепатитам (65% случаев), сахарному диабету, нарушению метаболизма. Интересно, что среди 51% лиц с определенными фиброзными изменениями печени были пациенты с неясным диагнозом и неопределенной этиологией возникновения печеночной патологии (26 человек, 6,6%). Данные нарушения были выявлены вследствие изменений показателей крови, результатов УЗИ, и для проведения теста FibroTest данные пациенты были направлены лечащими врачами с диагностической целью.

До недавнего времени биопсия являлась единственным методом исследования, позволяющим оценить состояние ткани печени. Недостатки, присущие гистологическому методу исследования, главным образом, его инвазивность, послужили толчком к разработке и внедрению в клиническую практику неинвазивных методов диагностики, которые позволяют с достаточной степенью надежности определять стадию заболевания печени, осуществлять динамическое наблюдение и оценивать эффективность проводимой терапии. В основе таких методов лежит анализ сывороточных маркеров в крови и изучение структуры печени с использованием метода эластографии (например, транзиентная эластография – ТЭ). Подобные исследования в настоящее время, особенно при полной корреляции результатов, полученных двумя различными методиками, позволяют в большинстве случаев избежать необходимости пункционной биопсии печени: «Оценка степени фиброза изначально может производиться с помощью неинвазивных методов, биопсия печени показана пациентам, у которых сохраняется неопределенность, или возможна дополнительная этиология патологического процесса» [12].

Неинвазивные тесты, основанные на определении сывороточных биомаркеров (FibroTest), наряду с инструментальным методом – эластографией, рекомендованы протоколами диагностики и лечения хронического вирусного гепатита в Республике Беларусь [1, 2], протоколами Европейской Ассоциации по Изучению Заболеваний Печени (EASL) [12], а также другими ведущими Ассоциациями: Азиатско-Тихоокеанская Ассоциация Изучения Заболеваний Печени (APASL), Американская Ассоциация Изучения Заболеваний Печени (AASDL). Преимущество применения двух различных неинвазивных методов в диагностике патологий печени, например TE+FibroTest, в том, что TE позволяет напрямую измерить структуру печени, тогда как биомаркеры способны проанализировать уровень активности воспаления [23, 24]. Комбинация из двух независимых методик позволяет наиболее эффективно определить степень выраженности фиброза, являясь тем самым альтернативой проведения пункционной биопсии печени [5, 7]. При этом в случае существенного несоответствия результатов неинвазивных тестов, а также пациентам, у которых сохраняется неопределенность в диагнозе, все же необходимо рекомендовать выполнение биопсии печени.

Практическое преимущество измерения стадии фиброза посредством сывороточных биомаркеров за-

ключается в их высокой степени применимости (>95%), их хорошей межлабораторной воспроизводимости, а также доступности: тесты основаны на использовании ряда рутинных лабораторных исследований [16].

Литература

1. Данилов, Д. Е., Карпов И. А., Литвинчук Д. В., Козаченко М. Г., Грибок И. А. Метод лечения хронического вирусного гепатита В. – Инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 116-1114. – Минск, 2014. – С. 19.
2. Данилов, Д. Е., Карпов И. А. Этиотропная терапия хронического вирусного гепатита С с применением лекарственных средств прямого действия. – Инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 048-0615. – Минск, 2015. – С. 22.
3. Angulo, P., Hui J. M., Marchesini G., Bugianesi E., George J., Farrell G. C. et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007; 45: 846854.
4. Boursier, J., de Ledinghen V., Zarski J. P., Rousselet M. C., Sturm N., Foucher J. et al. A new combination of blood test and fibroscan for accurate non-invasive diagnosis of liver fibrosis stages in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2011; 106: 12551263.
5. Boursier, J., de Ledinghen V., Zarski J. P., Fouchard-Hubert I., Gallois Y., Oberti F. et al. Comparison of eight diagnostic algorithms for liver fibrosis in hepatitis C: new algorithms are more precise and entirely noninvasive. *Hepatology*. 2012; 55: 5867.
6. Castera, L., Le Bail B., Roudot-Thoraval F., Bernard P. H., Foucher J., Merrouche W. et al. Early detection in routine clinical practice of cirrhosis and oesophageal varices in chronic hepatitis C: comparison of transient elastography (FibroScan) with standard laboratory tests and non-invasive scores. *J Hepatol*. 2009; 50: 5968.
7. Castera, L., Sebastiani G., Le Bail B., de Ledinghen V., Couzigou P., Alberti, A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2010; 52: 191198
8. Castera, L., Vergniol J., Foucher J., Le Bail B., Chanteloup E., Haaser M. et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005; 128: 343350.
9. Castera, L., Winrock, M., Pambrun E., Paradis V., Perez P., Loko M. A. et al. Comparison of transient elastography (FibroScan), FibroTest, APRI and two algorithms combining these non-invasive tests for liver fibrosis staging in HIV/HCV coinfecting patients: ANRS CO13 HEPAVIH and FIBROSTIC collaboration. *HIV Med*. 2014; 15: 3039.
10. Cross, T. J., Calvaruso V., Maimone S., Carey I., Chang T. P., Pleguezuelo M. et al. Prospective comparison of Fibroscan, Kings score and liver biopsy for the assessment of cirrhosis in chronic hepatitis C infection. *J Viral Hepat*. 2010; 17: 546554.
11. Degos F., Perez P., Roche B., Mahmoudi A., Asselineau J., Voitot H. et al. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: a multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). *J Hepatol*. 2010; 53: 10131021.
12. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis / European Association for Study of Liver, Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Higado // *Journal of Hepatology*. – 2015. – Vol. 63, № 1. – P. 237–264.
13. Forns, X., Ampurdanes S., Llovet J. M., Aponte J., Quinto, L., Martinez-Bauer, E. et al. Identification of chronic

□ **Обзоры и лекции**

hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. – 2002. – № 36. – P. 986992.

14. *Harrison, S. A., Oliver D., Arnold H. L., Gogja S. Neuschwander-Tetri, B. A.* Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut*. 2008; 57: 14411447.

15. *Hui, A. Y., Chan H. L., Wong V. W., Liew C. T., Chim A. M., Chan F. K. et al.* Identification of chronic hepatitis B patients without significant liver fibrosis by a simple noninvasive predictive model. *Am J Gastroenterol*. 2005; 100: 616623.

16. *Imbert-Bismut, F., Messous D., Thibaut V., Myers R. B., Piton A., Thabut D. et al.* Intra-laboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (Fibrotest) and activity (Actitest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med*. 2004; 42: 323333.

17. *Imbert-Bismut, F., Ratzu V., Pieroni L., Charlotte F., Benhamou, Y., and Poynard, T.* Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 2001; 357: 10691075.

18. *Kelleher, T. B., Mehta S. H., Bhaskar R., Sulkowski M., Astemborski J., Thomas D. L. et al.* Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: The SHASTA index. *J. Hepatol*. 2005; 43: 7884.

19. *Kim, B. K., Kim S. U., Kim H. S., Park J. Y., Ahn S. H., Chon C. Y. et al.* Prospective validation of FibroTest in comparison with liver stiffness for predicting liver fibrosis in Asian subjects with chronic hepatitis B. *PLoS One*. 2012; 7: e35825.

20. *Leroy, V., Monier F., Bottari S., Trocme C., Sturm N., Hilleret M. N. et al.* Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99: 271279.

21. *Nguyen-Khac, E., Chatelain D., Tramier B., Decrombecque C., Robert B., Joly J. P. et al.* Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using fibroscan: prospective comparison with 7 non-invasive laboratory tests. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 11881198.

22. *Patel, K., Gordon S. C., Jacobson I., Hezode C., Oh E., Smith K. M. et al.* Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J. Hepatol*. 2004; 41: 935942.

23. *Poynard, T., Ingiliz P., Elkrief L., Munteanu M., Lebray P., Morra R. et al.* Concordance in a world without a gold standard:

a new non-invasive methodology for improving accuracy of fibrosis markers. *PLoS One*. 2008; 3: e3857.

24. *Poynard, T., de Ledinghen V., Zarski J. P., Stanciu C., Munteanu M., Vergniol J. et al.* Relative performances of FibroTest, Fibroscan, and biopsy for the assessment of the stage of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a step toward the truth in the absence of a gold standard. *J. Hepatol*. 2012; 56: 541548.

25. *Sterling, R. K., Lissen E., Clumeck N., Sola R., Correa M. C., Montaner J. et al.* Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006; 43: 13171325.

26. *Trembling, P. M., Lampertico P., Parkes J., Tanwar S., Viganò M., Facchetti F. et al.* Performance of Enhanced Liver Fibrosis test and comparison with transient elastography in the identification of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B infection. *J. Viral. Hepat*. 2014; 21: 430438.

27. *Wai, C. T., Greenson J. K., Fontana R. J., Kalbfleisch J. D., Marrero J. A., Conjeevaram H. S. et al.* A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003; 38: 518526.

28. *Wong, G. L., Chan H. L., Choi P. C., Chan A. W., Yu Z., Lai J. W. et al.* Non-invasive algorithm of enhanced liver fibrosis and liver stiffness measurement with transient elastography for advanced liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014; 39: 197208.

29. *Wong, V. W., Vergniol J., Wong G. L., Foucher J., Chan H. L., Le Bail B. et al.* Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010; 51: 454462.

30. *Wong, G. L., Wong V. W., Choi P. C., Chan A. W., Chan H. L.* Development of a non-invasive algorithm with transient elastography (Fibroscan) and serum test formula for advanced liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 31: 10951103.

31. *Zarski, J. P., Sturm N., Guechot J., Paris A., Zafrani E. S., Asselah, T. et al.* Comparison of nine blood tests and transient elastography for liver fibrosis in chronic hepatitis C: The ANRS HCEP-23 study. *J Hepatol*. 2012; 56: 5562

32. *Zeng, M. D., Lu L. G., Mao Y. M., Qiu D. K., Li J. Q., Wan M. B. et al.* Prediction of significant fibrosis in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B by a noninvasive model. *Hepatology*. 2005; 42: 14371445.