

А. С. Ладутько

ИЗМЕНЕНИЕ ЗНАЧЕНИЙ МАРКЕРОВ ФИБРОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ И ХОЛАНГИОЦЕЛЛЮЛЯРНЫМ РАКОМ ПЕЧЕНИ

Научный руководитель ассист. Т. В. Томан

Кафедра биологической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A. S. Ladutko

CHANGES IN VALUES OF FIBROSIS MARKERS IN PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR AND CHOLANGIOCELLULAR LIVER CANCER

Tutor assistant T. V. Toman

Department of Biological Chemistry,

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В статье представлены результаты исследования 41 пациента с раком печени, определены маркеры фиброза и изменение их значений в зависимости от вида, стадии онкологического заболевания и его отягощенности циррозом печени.

Ключевые слова: гепатоцеллюлярный рак, холангиоцеллюлярный рак, цирроз, маркеры фиброза, биомаркерные тест-системы.

Resume: The article presents the results of study of 41 patients with liver cancer. Fibrosis markers and changes in their values depending on the type, stage of cancer and its burden by cirrhosis have been determined.

Keywords: hepatocellular carcinoma, cholangiocellular carcinoma, cirrhosis, markers of fibrosis, biomarker test systems.

Актуальность. Рак печени занимает 6 место в структуре онкологической заболеваемости и 3 место среди причин онкологической смертности в мире. Среди пациентов с этим видом онкологии мужчины встречаются в 4-9 раз чаще женщин, средний возраст заболевших – 40-50 лет [1].

Стратегия химиотерапевтического лечения таких пациентов определяется выраженностью структурно-функционального поражения печени. Поскольку химиотерапия является фактором гепатотоксичности, оценку степени поражения важно провести до лечения [5]. Таким образом, становится необходимым поиск высокоспецифичного и чувствительного маркера или группы показателей, которые могут использоваться для определения степени риска развития печеночной недостаточности, а также для мониторинга химиотерапии и прогнозирования повреждений печени, связанных с ней.

Воспаление в случае хронического повреждения является триггером фиброза, а в последующем – цирроза печени. Одним из методов неинвазивной диагностики фиброза печени может быть использование лабораторных показателей, отражающих патологический процесс в печени и коррелирующих с тяжестью ее поражения [6]. Они определяются в плазме крови и одновременно характеризуют целостность и метаболическую активность клеток.

К ним относятся так называемые прямые маркеры, отражающие процессы фиброгенеза и фибролиза: гиалуроновая кислота (НА – высокомолекулярный полисахарид экстрацеллюлярного матрикса), N-концевая последовательность проколлагена

гена III (PІІІNP – продукт расщепления коллагена), тканевые ингибиторы металло-протеиназ (TIMPs) [2]. В работах ряда авторов показано, что сывороточные тесты PІІІNP, НА и TIMP1 являются более информативными, чем эластография печени, и могут стать перспективными неинвазивными маркерами оценки поражения печени [7].

Для упрощения процесса диагностики поражений печени существует ряд тест-систем, включающих сразу несколько показателей. Enhanced Liver Fibrosis test (ELF) – тест-система панели прямых маркеров, включающая НА, PІІІNP и TIMP1 [8]. Другая известна как «индекс APRI» – отношение активности АсАТ (аспартатамино-трансферазы) к числу тромбоцитов[9].

Цель: оценка изменения маркеров метаболизма соединительной ткани, панели ELF, индекса APRI, – у пациентов с первичным очагом злокачественного роста в печени.

Задачи:

1. Сравнить изменение значений маркеров фиброза у пациентов с первичным ГЦР и ХЦР.
2. Сравнить значения маркеров фиброза у пациентов с ГЦР на фоне цирроза и ГЦР без цирроза.
3. Сравнить значения маркеров фиброза у пациентов с ГЦР на разных стадиях заболевания.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе государственного учреждения «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова». Материалом для исследования служила плазма крови и цельная кровь 30 пациентов с первичным гепатоцеллюлярным раком (ГЦР) I–IV стадии, 11 пациентов, страдающих холангиоцеллюлярным раком (ХЦР) III–IV стадии и 31 клинически здорового лица группы контроля, не имеющих на момент обследования злокачественных заболеваний (их них 17 женщин и 14 мужчин). Из 41 обследованного пациента с первичным ГЦР и ХЦР у 19 (46,3%) пациентов диагностирован ГЦР на фоне цирроза печени.

Взятие крови проводилось до обследования пациентов. Активность АсАт определялись фотометрически на биохимическом анализаторе AU 680 (производства BeckmanCoulterInc., США) с использованием стандартных наборов реагентов. Определение сывороточной концентрации прямых маркеров фиброза (НА, PІІІNP и TIMP-1) проводили на автоматическом иммунохемилюминесцентном анализаторе Advia Centaur CP (производства SIEMENS Healthcare Diagnostics, Inc., США), использующем принцип прямой хемилюминесценции, с помощью стандартных наборов реагентов. Подсчет количества тромбоцитов проводили на автоматическом гематологическом анализаторе SYSMEX XE-5000 (производства SYSMEX, Япония), использующем технологию флуоресцентной проточной цитометрии.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов статистического анализа данных STATISTICA 10.0 (StatSoftInc., США). Анализ осуществляли непараметрическими методами вариационной статистики и выражали в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей [25%-75%]. При изучении статистических различий между двумя группами показателей использовался критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Концентрация прямых маркеров фиброза в плазме крови как при ГЦР, так и ХЦР были достоверно выше нормы (табл. 1). Наиболее выраженные изменения претерпел уровень гиалуриновой кислоты. Медиана этого показателя почти в 8 раз превышала контрольный уровень у пациентов с ГЦР и в 3,5 раза – у пациентов с ХЦР. Значения показателей РШНР и TIMP1 в группе с ГЦР достоверно не отличались от значений в группе с ХЦР.

Табл. 1 Показатели метаболизма, измеренные в плазме крови здоровых людей и пациентов с первичным гепатоцеллюлярным или холангиоцеллюлярным раком

Исследуемый показатель	Контроль (n=31)	ГЦР (n=30)	ХЦР (n=11)
РШНР, нг/мл	4,5 [4,1 – 5,4]	10,25 [8,9 – 15,9]*	12,4 [11,2 – 12,9]*
TIMP1, нг/мл	169,6 [137,9 – 185,0]	380,2 [281,5 – 519,1]*	300,0 [267,4 – 500,1]*
НА, нг/мл	15,6 [12,3 – 23,2]	122,4 [52,5 – 247,7]*(**)	55,35 [49,2 – 71,0]*
ELF	8,0 [7,5 – 8,4]	11,0 [10,1 – 12,1]*(**)	9,95 [9,9 – 10,1]*
АсАт, Ед/л	20,8 [19,0 – 28,0]	48,0 [33,2 – 69,4]*	40,0 [27,9 – 69,0]*
APRI, г/л	0,09 [0,07 – 0,12]	0,23 [0,16 – 0,37]*	0,16 [0,1 – 0,24]*
PLT, *10 ⁹ /л	233 [220 – 282]	201 [104 – 229]* (**)	265,0 [166,0 – 314,0]

*Примечание: здесь, а также в таблице 2 – * - разница достоверна относительно контрольной группы; (**) – разница достоверна относительно группы пациентов с ХЦР*

Значения ELF-теста у больных раком печени также были выше значений контрольной группы, причём у пациентов с ГЦР они превышали значения пациентов с ХЦР.

Изменение концентрации прямых маркеров фиброза в крови испытуемых отражает метаболизм в клеточном матриксе (фиброгенез и фибролиз), а также в звёздчатых клетках печени. Как известно, они активируются при повреждении или массовой гибели гепатоцитов. В этот период в звёздчатых клетках активно синтезируются компоненты клеточного матрикса. При этом в крови нарастает концентрация гиалуриновой кислоты и РЗНР. Избыточное образование компонентов клеточного матрикса приводит к капилляризации и стенозированию синусоидов, исчезают фенестры эндотелия, нарушается функция гепатоцитов, что приводит к снижению синтетической и антитоксической функции печени. Прогрессирование фиброза также сопровождается повышением активности тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП-1 и -2), основным источником которых служат звёздчатые клетки. ТИМП-1, -2 подавляют активность металлопротеиназ и препятствуют деградации матрикса [3]. Судя по выраженности обнаруженных изменений, процессы фиброгенеза при первичном ГЦР протекают активнее, чем при ХЦР.

У части пациентов с ГЦР онкологический процесс был отягощен циррозом печени. Целесообразно было сопоставить значения показателей этих пациентов с группой больных, у которых ГЦР не сопровождался развитием цирроза. Наличие цирроза оказало существенное влияние на уровень всех исследуемых показателей (табл. 2). Наибольшую разницу демонстрирует концентрация гиалуроновой кислоты. Её медиана у этой группы пациентов в 4,5 раза выше, чем у пациентов без цирроза. Значения индекса ELF у пациентов с циррозом также превышали значения в группе пациентов без цирроза.

Табл. 2. Показатели метаболизма, измеренные в плазме крови пациентов с ГЦР на фоне цирроза печени и при его отсутствии, а также на различных стадиях развития опухолевого процесса

Исследуемый показатель	Пациенты с циррозом (n=19)	Пациенты без цирроза (n=11)	1 и 2 стадии ГЦР (n=9)	3 и 4 стадия ГЦР (n=21)
РПНР, нг/мл	14,65 [9,1 – 37,4]*	11,8 [9,4 – 15,9]*	8,9 [8,2 – 10,1]*	12,3 [9,4 – 16,6]*•
ТИМР1, нг/мл	411,2 [311,7 – 681,3]*	328,6 [240,8 – 438,5]*	304,8 [219,1 – 379,4]*	414,9 [283,8 – 627,7]*
НА, нг/мл	237,7 [133,3 – 297,8]*#	51,9 [48,95 – 62,1]*	118,8 [50,0 – 149,1]*	133,3 [58,4 – 297,8]*
ELF	11,3 [10,6 – 12,8]*#	10,1 [9,6 – 10,4]*	10,5 [9,5 – 10,5]*	11,3 [10,3 – 12,1]*•
АсАт, Ед/л	66,8 [47,0 – 140,0]*#	37,3 [30,5 – 68,3]*	48,25 [33,8 – 72,7]*	50,0 [33,4 – 83,2]*
APRI, г/л	0,49 [0,24 – 1,74]*#	0,17 [0,14 – 0,26]*	0,34 [0,15 – 0,42]*	0,19 [0,16 – 0,24]*
PLT, *10 ⁹ /л	141,0 [81 – 214]*	209,0 [206 – 229]*	166 [81 – 203]*	210 [122 – 245]*

Примечание: # – разница достоверна относительно группы пациентов без цирроза; • – разница достоверна относительно группы пациентов с 1 и 2 стадией ГЦР

Значения индекса APRI были достоверно выше у лиц с ГЦР на фоне цирроза. Также у этой группы пациентов отмечается повышение уровня активности АсАт, что является характерным проявлением цирроза печени [4].

Наблюдаемые изменения показателей были сопоставлены у пациентов с различными стадиями ГЦР. В результате сравнения групп пациентов с различной степенью распространения опухоли была выявлена направленность выраженности изменений по сравнению с контролем. Статистически достоверная разница между стадиями была обнаружена для показателей РПНР и ELF-теста. Несмотря на заметные отличия медиан, для остальных показателей различия оказались не достоверными. Можно предположить, что такой результат обусловлен небольшим количеством наблюдений, по крайней мере, в группе пациентов с 1 и 2 стадиями, и существенными колебаниями индивидуальных результатов, о которых свидетельствуют процентильные размахи в приведенных данных.

Выводы:

1 У пациентов с первичным ГЦР и ХЦР в плазме крови изменены показатели метаболизма молекулярных компонентов соединительной ткани. Рост концентрации НА, РШНР, TIMP-1, а также индекса ELF говорит об активации процессов фиброгенеза вследствие гибели гепатоцитов. При этом у пациентов с ГЦР эти процессы выражены в большей степени.

2 Наличие цирроза печени при ГЦР усугубляет состояние гепатоцитов. Это проявляется в увеличении концентрации НА, АсАт, индексов ELF и APRI.

3 Увеличение индекса ELF, а также концентрации РШНР в плазме крови пациентов с первичным ГЦР имеет связь со стадией заболевания.

Литература

1. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2007–2016) Океанов А.Е., Моисеев П.И., Левин Л.Ф., А.А. Евмененко под ред. Суконко О.Г. – Минск: РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, 2017. – С. 100.

2. Левзан М.А., Лаптева И.В., Кролевец Т.С. Уровень матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов как неинвазивный маркер функционального состояния печени при неалкогольной жировой болезни // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – Т. 131, № 7. – С. 25-31.

3. Винницкая, Е. В. Диагностическая значимость сывороточных маркеров фиброза при хронических заболеваниях печени / Е.В.Винницкая, В. Н. Дроздов, Ю. М. Юнусова, Г. Г. Варварина, Н. А. Шапошникова, А. В. Петраков, Е. В. Ткаченко, Л. Б. Лазебник // Терапевтический архив. – 2013. – № 2. – С. 27-31.

4. Вельков В.В., Неинвазивные биомаркеры фиброза печени: до свидания, биопсия? / В.В. Вельков // Клинико-лаб. консилиум. Научно-практ. журнал. – 2009. – Т. 30, № 5. – С. 34-44.

5. Pathologic response to preoperative chemotherapy: a new outcome end point after resection of hepatic colorectal metastases / D.G. Blazer, Y. Kishi, D.M. Maru et al. // J. Clin. Oncol. – 2008. – Vol. 26, № 33. – P. 5344-5351.

6. Correlation of serum liver fibrosis markers with severity of liver dysfunction in liver cirrhosis: a retrospective cross-sectional study / C. Zhu, X. Qi, H. Li et al. // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 5989-5998.

7. Performance of enhanced liver fibrosis test and comparison with transient elastography in the identification of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B infection / P.M. Trembling, P. Lampertico, J. Parkes et al. // Journal of Viral Hepatitis. – 2014. – № 21. – P. 430-438.

8. Enhanced liver fibrosis (ELF) score: analytical performance and distribution range in a large cohort of blood donors / A. Dellavance, F. Fernandes, N. Shimabokuro et al. // Clinica Chimica Acta. – 2016. – № 461. – P. 151-155.

9. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C / C.T. Wai, J.K. Greenson, R.J. Fontana et al. // Hepatology. – 2003. – Vol. 38, № 2. – P. 518-526.