

УДК 616.98:578.891]-036.12:616.36-004-074

*В.М. Козько, Н.В. Анциферова, Г.О. Соломенник, Я.І. Копійченко,
А.В. Сохань*

Харківський національний медичний університет

НЕІНВАЗИВНА СИСТЕМА «ГЕПАФІБРОДЕТЕКТ» У ВИЗНАЧЕННІ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

Показана ефективність визначення стадій фіброзу у хворих на хронічний гепатит С за розробленою неінвазивною системою «Гепафібродетект». У якості індикаторів запропоновано аналіз рівнів матриксних металопротеїназ-1, трансформуючого фактора росту- β 1 та гаптоглобіну. Прогностичний показник стадії фіброзу розраховували за спеціально розробленою формулою з визначенням його меж.

Ключові слова: *хронічний гепатит С, стадія фіброзу, неінвазивна система «Гепафібродетект», матриксні металопротеїнази-1, трансформуючий фактор росту- β 1, гаптоглобін.*

Поширення хронічного гепатиту С (ХГС) з безсимптомним перебігом захворювання є проблемою сучасної гепатології [1–4]. Важливим питанням у вирішенні цієї проблеми є пошук нових ефективних діагностичних методів [5–8]. Незважаючи на велику кількість запропонованих методик, проблема діагностики захворювань печінки вірусної етіології залишається актуальною [6, 9–11].

Метою даного дослідження було визначити стадії фіброзу у хворих на ХГС за розробленою неінвазивною системою «Гепафібродетект».

Матеріал і методи. Об'єктом спостереження були 23 хворих на ХГС. У контрольну групу ввійшли 24 практично здорових особи.

Вміст гаптоглобіну визначали фотометричним методом у реакції з риванолом за допомогою діагностикуму фірми «Реагент» (Україна). Дане дослідження не вимагало від хворих спеціальної підготовки напередодні. Принцип методу полягає в тому, що до сироватки крові додають чітко визначену кількість гемоглобіну. Комплекс гемоглобін-гаптоглобін, що при цьому формується, осаджують риванолом. За надлишком у розчині гемоглобіну фотометрично визначають вміст гаптоглобіну у сироватці крові. Кількісне визначення у сироватці крові трансфор-

муючого фактора росту- β 1 (ТФР- β 1) досліджували з використанням імуноферментних наборів TGF- β 1 ELISA (США), матриксних металопротеїназ (ММП-1) — за допомогою імуноферментних наборів Human MMP-1 ELISA Kit (США). Всі етапи аналізу проводили у відповідності до рекомендованого протоколу виробника. Метод відбиває кількісне визначення антигену, що вивчається, при його пошаровому зв'язуванні із специфічними моноклональними антитілами, фіксованими на поверхні лунок планшета. Оцінювали стадію фіброзу за системою FibroMax як альтернативу пункційної біопсії печінки та для порівняння у відношенні достовірності запропонованого нами методу неінвазивної оцінки стадії фіброзу. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена r_s .

Результати та їх обговорення. Для оцінки стадії фіброзу печінки індикатори пропонуються рівні ММП-1, ТФР- β 1 та гаптоглобіну. Активність ММП-1 у клітині регулюється на різних рівнях, включаючи транскрипцію, активацію білка і взаємодію з ендогенними інгібіторами, такими як тканинні інгібітори металопротеїназ. ММП-1 відіграють центральну роль

© В.М. Козько, Н.В. Анциферова, Г.О. Соломенник та ін., 2012

в обміні білків сполучної тканини, тому було важливо простежити рівень цього показника у пацієнтів з фіброзом. Дослідження проти запального цитокіну ТФР- β 1 було проведено з метою з'ясування стимулюючої ролі показника у формуванні фіброзної тканини печінки. Важлива антиендоксична функція в організмі людини належить гаптоглобіну, який синтезується в печінці та виконує транспортні, елементарні і детоксикуючі функції.

У патогенетичних механізмах розвитку фіброзу важливу роль відіграло порушення балансу матриксних металопротеїназ, що виражалось у зменшенні вироблення ММП-1 фібробластами (табл. 1). Так, у обстежених з

чінкової тканини. Даний стан, ймовірно, пов'язаний з посиленням катаболізму білка, постійним руйнуванням клітин печінки та імунологічними зрушеннями в організмі.

Для встановлення статистичного зв'язку між системою «Гепатифібродетект» та стадією фіброзу був проведений розрахунок коефіцієнта рангової кореляції Спірмена r_s . Результати показали, що між рівнем ММП-1 і стадіями фіброзу був виявлений сильний зворотний зв'язок: із зростанням ступеня фіброзу рівень ММП-1 знижувався ($r_s=0,96$). Між рівнем ТФР- β 1 і стадіями фіброзу був виявлений сильний прямий зв'язок: із зростанням ступеня фіброзу рівень ТФР- β 1 збільшувався ($r_s=0,9393$). Між рівнем гаптоглобіну і стаді-

Таблиця 1. Аналіз показників за системою «Гепатифібродетект» у обстежених хворих ($M \pm m$)

Показник	Пацієнти з ХГС (n=23)	Контрольна група (n=24)	p
ММП-1, нг/мл	17,78 \pm 0,41	24,16 \pm 1,38	p<0,001
ТФР- β 1, нг/мл	5,70 \pm 0,21	1,14 \pm 0,21	p<0,001
Гаптоглобін, г/л	1,08 \pm 0,01	1,37 \pm 0,13	p<0,05

Примітка. p — достовірність при порівнянні з показником контрольної групи.

ХГС рівень ММП-1 був вірогідно зменшений та становив у середньому (17,78 \pm 0,41) нг/мл (p<0,001), у контрольній групі аналогічний показник був (24,16 \pm 1,38) нг/мл.

Дослідження ТФР- β 1 показало, що його рівень у хворих на ХГС був статистично підвищений у декілька разів, що становило (5,70 \pm 0,21) нг/мл (p<0,001) проти аналогічного показника в контрольній групі — (1,14 \pm 0,21) нг/мл.

У хворих на ХГС нами отриманий середній рівень гаптоглобіну, який був статистично знижений та становив (1,08 \pm 0,01) г/л (p<0,05) проти показника контрольної групи — (1,37 \pm 0,13) г/л.

Таким чином, результати аналізу рівня ММП-1 показали, що сироватковий маркер був вірогідно знижений (p \leq 0,001), що вказувало на колагенолітичну активність паренхіми печінки. При вивченні рівня ростового фактора ТФР- β 1 в сироватці крові було відмічено його підвищення, що можна пояснити активацією запальної реакції. Зниження синтезу гаптоглобіну відносно показника контрольної групи пояснюється активацією запального процесу, пов'язаного з розпадом пе-

ями фіброзу був виявлений помірний зворотний зв'язок: із зростанням стадії фіброзу рівень гаптоглобіну знижувався ($r_s=0,5714$).

Прогностичний показник стадії фіброзу розраховували за формулою

$ППФ = \text{ММП} / \text{ТФР} \times \text{гаптоглобін}$,
де ППФ — прогностичний показник фіброзу; ММП-1 — матриксна металопротеїназа-1, нг/мл; ТФР — трансформуючий фактор росту- β 1, нг/мл.

Приклади розрахунку стадій фіброзу подано в табл. 2.

При розрахунку показників ММП-1, гаптоглобіну, ТФР- β 1 за системою «Гепатифібродетект» встановлено, що для кожної стадії фіброзу були характерні певні межі прогностичного показника фіброзу: при відсутності фіброзу (F 0) прогностичний показник був більше 10 (10<ППФ), для ступеня F 1 ППФ становив від 4 до 9 (4<ППФ<9), для ступеня F 2 — від 3 до 4 (3<ППФ<4), для ступеня F 3 — від 1 до 3 (1<ППФ<3), для ступеня F 4 — завжди був менше 1 (ППФ<1). Таким чином, простежувався зворотний зв'язок: із зростанням ступеня фіброзу прогностичний показник фіброзу знижувався.

Таблиця 2. Прогностичний показник стадій фіброзу за системою «Гепафібродетект» у хворих на ХГС помірної активності

Приклад	Стадія фіброзу (F)	ММП-1, нг/мл	ТФР-β1, нг/мл	Гаптоглобін, г/л	ППФ
1. Хвора, 48 років	F 0	26,92	2,39	0,91	26,92/2,39·0,91=10,24
2. Хворий, 54 роки	F 0	25,84	2,32	1,02	25,84/2,32·1,02=11,36
3. Хвора, 51 рік	F 1	21,21	2,87	1,16	21,21/2,87·1,16=8,57
4. Хворий, 70 років	F 1	19,77	2,58	1,02	19,77/2,58·1,25=7,81
5. Хворий, 48 років	F 2	19,07	6,41	1,01	19,07/6,41·1,01=3,00
6. Хворий, 61 рік	F 2	18,32	6,44	1,11	18,32/6,44·1,11=3,16
7. Хворий, 56 років	F 3	14,61	7,89	0,91	14,61/7,89·0,91=1,68
8. Хвора, 55 років	F 3	16,32	7,71	0,95	16,32/7,71·0,95=2,01
9. Хворий, 49 років	F 4	5,79	9,32	0,85	5,79/9,32·0,85=0,53
10. Хворий, 61 рік	F 4	6,65	8,79	0,86	6,65/8,79·0,86=0,65

Висновки

Технічний ефект неінвазивної системи «Гепафібродетект», а саме: можливість визначення стадії фіброзу у хворих на хронічний гепатит С, зумовлений тим, що спосіб оцінює стан матриксних металопротеїназ-1, трансформуючого фактора росту-β1 та вміст гаптоглобіну у сироватці крові, що відбиває морфологічні і функціональні зміни печінки.

Визначення стадії фіброзу при хронічному гепатиті С важливо для планування тактики лікування та прогнозування розвитку патологічного процесу. Спосіб доступний та легкий у реалізації. Формула розрахунку проста і не має обмежень у виконанні. Матриксні металопротеїнази-1, трансформуючий фактор росту-β1, гаптоглобін можна вважати надійними індикаторами фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит С.

Список літератури

1. Гепатит С: епідеміологічне вивчення та розповсюдження / А. Л. Гураль, В. Ф. Марієвський, Т. А. Сергеев, В. Р. Шагінян // Мат. наук.-практ. конференції і пленуму Асоціації інфекціоністів України. — Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. — С. 59–61.
2. Майер К. П. Гепатит и последствия гепатита / К. П. Майер. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2004. — 720 с.
3. Вивчення сучасної епідеміологічної і вірусологічної характеристики гепатиту С на території північно-західної частини України / І. С. Хоронжевська-Муляр, Г. А. Мартинюк, Г. М. Шевченко [та ін.] // Гепатологія. — 2010. — № 1 (7). — С. 35–41.
4. Tohme R. A. Transmission of hepatitis C virus infection through tattooing and piercing: a critical review / R. A. Tohme, S. D. Holmberg // Clin. Infect. Dis. — 2010. — V. 54 (8). — P. 1167–1178.
5. Возианова Ж. И. Вирусные гепатиты в структуре хронической патологии печени / Ж. И. Возианова // Сучасні інфекції. — 2007. — № 4. — С. 4–9.
6. Радченко В. Г. Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы / В. Г. Радченко, А. В. Шабров, Е. Н. Зиновьева. — СПб. : Диалект, 2005. — 864 с.
7. Role of fibrogenic markers in chronic hepatitis C and associated hepatocellular carcinoma / N. E. El-Bassiouni, M. M. Nosseir, M. E. Madkour [et al.] // Mol. Biol. Rep. — 2012. — Jun.; v. 39 (6). — P. 6843–6850.
8. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C / D. B. Strader, T. Wright, D. L. Thomas [et al.] // Hepatology. — 2004. — V. 39, № 4. — P. 1147–1172.
9. Логинов А. С. Хронические гепатиты и циррозы печени / А. С. Логинов, Ю. Е. Блок. — М. : Медицина, 1987. — 272 с.
10. Хронические заболевания печени / [Шабров А. В., Нечаев В. В., Зиновьева Е. Н., Ермолов С. Ю.]. — СПб. : СПбМА им. И. И. Мечникова, 2001. — 143 с.

11. Hepatitis C: epidemiology, diagnosis, natural history and therapy / S. Pol, A. Vallet-Pichard, M. Coroude, V. O. Mallet // Contrib. Nephrol. — 2012. — V. 176. — P. 1–9.

В.Н. Козько, Н.В. Анцыферова, А.О. Соломенник, Я.И. Копейченко, А.В. Сохань
НЕИНВАЗИВНАЯ СИСТЕМА «ГЕПАФИБРОДЕТЕКТ» В ОПРЕДЕЛЕНИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Показана эффективность определения стадий фиброза у больных хроническим гепатитом С по разработанной неинвазивной системе «Гепифибродетект». В качестве индикаторов предложен анализ уровней матриксных металлопротеиназ-1, трансформирующего фактора роста- β 1 и гаптоглобина. Прогностический показатель стадии фиброза рассчитывали по специально разработанной формуле с определением его границ.

Ключевые слова: хронический гепатит С, стадия фиброза, неинвазивная система «Гепифибродетект», матриксные металлопротеиназы-1, трансформирующий фактор роста- β 1, гаптоглобин.

V.M. Kozko, N.V. Antsyferova, A.O. Solomennyyk, Ya.I. Kopychenko, A.V. Sokhan
NON-INVASIVE SYSTEM «GEPAFIBRODETEKT» IN DETERMINING LIVER FIBROSIS
IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

The effectiveness of the definition of stages of fibrosis in patients with chronic hepatitis C in the developed non-invasive system «Gepafibrodetekt» is shown. The levels of matrix metalloproteinase-1, transformational growth factor- β 1 and haptoglobin are used as an indicators of the stages. The prognostic indicator of the fibrosis stage was calculated by a specially developed formula with the definition of the boundaries of prognostic indicator of fibrosis.

Key words: chronic hepatitis C, the fibrosis stage, non-invasive system «Gepafibrodetekt», matrix metalloproteinase-1, transformational growth factor- β 1, haptoglobin.

Поступила 27.01.12