

УДК 616.36-002-008.847.9-076-053.6:613.25

СИРОВАТКОВІ МАРКЕРИ ФІБРОГЕНЕЗУ ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ У ПІДЛІТКІВ З ОЖИРІННЯМ

Проф. Л. К. Пархоменко, проф. Л. А. Страшок, О. В. Бузницька,
канд. біол. наук С. Б. Павлов

Харківська медична академія післядипломної освіти

Наведено дані про сучасні принципи неінвазивної діагностики фіброзних змін на тлі неалкогольної жирової хвороби печінки у підлітків з ожирінням. Вивчено діагностичне значення сироваткових маркерів фіброзу за неалкогольної жирової хвороби печінки. Показано, що визначення рівня колагену IV типу і фібронектину для діагностики фіброзу печінки має високу чутливість.

СЫВОРОТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ФИБРОГЕНЕЗА ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ

Проф. Л. К. Пархоменко, проф. Л. А. Страшок,
Е. В. Бузницкая, канд. биол. наук С. Б. Павлов

Приведены данные о современных принципах неинвазивной диагностики фиброзных изменений на фоне неалкогольной жировой болезни печени у подростков с ожирением. Изучено диагностическое значение сывороточных маркеров фиброза при неалкогольной жировой болезни печени. Показано, что определение уровня коллагена IV типа и фибронектина для диагностики фиброза печени обладает высокой чувствительностью.

THE SERUM MARKERS OF LIVER FIBROSIS OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN ADOLESCENTS WITH OBESITY

L. K. Parkhomenko, L. A. Strashok, E. V. Buznytska,
S. B. Pavlov

In the article contemporary principles of non-invasive method of diagnostics of fibrotic alterations of non-alcoholic fatty liver disease are described in adolescents with obesity. Authors studied diagnostic role of serum markers of liver fibrosis of non-alcoholic fatty liver disease. Authors showed that determination of collagen type IV and fibronectin for diagnosis of liver fibrosis had high sensitivity.

Нині медико-соціальна проблема ожиріння набула планетарного масштабу, що пов'язано в першу чергу зі значним поширенням цього захворювання серед дорослих і дітей та його наслідками. За прогностичними даними на кінець 2010 р. ожиріння спостерігали в середньому у 30 % дітей світу з незначними коливаннями залежно від регіону проживання [8]. На початку XXI ст. було встановлено, що у хворих на ожиріння в 30–100 % випадків виявляється неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) [15], яка має послідовні клініко-морфологічні етапи [4]: I — накопичення ліпідів у гепатоцитах — формування стеатозу; II — розвиток запалення — стеатогепатит; III — формування фіброзу; IV — кінцевий етап — цироз печінки. Патогенез НАЖХП тісно пов'язаний із синдромом інсулінорезистентності (ІР), унаслідок

чого в печінці накопичуються тригліцериди та формується жировий гепатоз — перший етап, або «поштовх» захворювання. Згодом відбувається вивільнення з жирової тканини і синтез de novo в гепатоцитах вільних жирних кислот, які сприяють виникненню окиснювального стресу, що є другим «поштовхом» захворювання і призводить до розвитку запальних й деструктивних змін у печінці у вигляді стеатогепатиту. Останні дослідження свідчать, що НАЖХП є фактором ризику для цукрового діабету 2 типу і раннім маркером преморбідного стану серцево-судинної системи [11].

Тривалий час вважалося, що НАЖХП має доброякісний перебіг, однак останнім часом доведено, що у чверті (27 %) пацієнтів за 9 років розвивається фіброз, а в кожного п'ятого (19%) — цироз різного ступеня [12].

За тривалішого спостереження прогресування фіброзу виявляється у 50% хворих [6]. Зазвичай цей процес відбувається без клінічної маніфестації. Сучасні дані популяційних досліджень свідчать про те, що 80% криптогенних цирозів печінки є наслідками НАЖХП [3, 5].

«Золотим» стандартом діагностики фіброзу є пункційна біопсія печінки (ПБП) із наступною оцінкою стадій фіброзу за шкалами Knodell, Ishak та METAVIR [7, 9, 10]. Нині є очевидним, що ПБП має низку суттєвих обмежень, а саме: віковий чинник, ризик ускладнень, так звані «помилки потрапляння», які зумовлюють від 15 до 65% варіабельності результату [2, 13, 14]. Тому тепер метою багатьох мультицентрових досліджень у світі є вдосконалення методів діагностики захворювань печінки. Активно проводиться пошук неінвазивних маркерів фіброзу печінки, переважно біохімічних, які відображають активність і стадію хвороби, є безпечними, високо корелюють із показниками біопсії печінки та максимально доступні у загальній практиці [1, 15].

Мета роботи — вивчити можливості сироваткових маркерів (фібронектин, колаген IV типу) у ранній діагностиці фіброзу печінки у підлітків з ожирінням.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В умовах відділення ендокринології ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України» було обстежено 226 хворих на ожиріння віком 8–18 років: 129 юнаків ($57,08 \pm 3,29\%$), 97 дівчат ($42,92 \pm 3,29\%$). Контрольну групу склали 20 здорових дітей аналогічного віку. Усім дітям було проведено комплексне клініко-лабораторне обстеження. Об'єктивне дослідження включало антропометрію з визначенням росту, маси тіла, окружності талії та стегон, індексу маси тіла ($IMT = m/h^2$, де m — маса тіла, кг; h — зріст, м). Для оцінки функціонального стану печінки у підлітків з ожирінням використовували біохімічне дослідження крові з визначенням показників ліпідного, пігментного та білкового обмінів. Для оцінки наявності IP обчислювався індекс НОМА-IR = $(G_0 \cdot Ins_0) / 22,5$, де G_0 — рівень глюкози плазми крові натще, ммоль/л; Ins_0 — вміст імунореактивного інсуліну в сироватці крові натще, мкОД/мл. Результат $\geq 3,5$ ум. од., свідчив про наявність IP.

Як можливі лабораторні предиктори фіброгенезу, методом імуноферментного аналізу в сироватці крові хворих визначали маркери метаболізму екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) печінки: фібронектин (Fibronectin ELISA Kit, ЗАТ «Биохиммак», Москва), колаген IV типу (Serum collagen IV EIA, Argutus Medical, Japan). Референтні значення для колагену IV типу — $99 \pm 2,3$ мкг/л у сироватці крові; фібронектину — $70 \pm 14,0$ мкг/мл у плазмі крові. Наявність зазначених маркерів у сироватці та плазмі крові обстежених осіб вище максимально допустимого рівня свідчить про фіброз печінки.

Створення бази даних та статистична обробка результатів проведена з використанням пакетів прикладних програм Microsoft Excel та SPSS Statistics 17.0. Для оцінки вірогідності відмінностей використано t-критерій Стьюдента (p). Критичний рівень значущості для перевірки статистичних гіпотез під час порівняння груп приймався рівним 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Було встановлено, що у 113 ($50,0 \pm 3,33\%$) хворих за рівнем індексу НОМА-IR була виявлена IP.

Результати дослідження рівнів загального білірубину та показників білкового обміну печінки перебували в межах вікової норми та не мали вагомих відмінностей залежно від наявності IP (табл. 1).

Характеристика показників ліпідограми залежно від наявності IP у підлітків з ожирінням засвідчила, що в групі хворих з індексом НОМА-IR понад 3,5 ум. од., рівні тригліцеридів (ТГ) та холестерину ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) достовірно були вищими, ніж у групі дітей без IP (табл. 2).

Показники загального холестерину (ХС) не перевищували вікові нормативи та достовірно не відрізнялися в групах: $4,12 \pm 0,08$ та $4,17 \pm 0,07$ відповідно ($p > 0,05$). Рівень холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ) був дещо знижений у групі дітей з IP — $1,02 \pm 0,03$ (IDF consensus report, 2007) та мав тенденцію до зниження в групі обстежених без IP — $1,11 \pm 0,03$ ($p > 0,05$). Було встановлено підвищення рівня холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) в обох групах, більш виражене серед обстежених

Таблиця 1

Показники біохімічного аналізу крові у підлітків з ожирінням залежно від наявності ІР ($M \pm \sigma$)

Групи хворих	n	Білірубін, ммоль/л	АЛТ, Од/л	АСТ, Од/л	ЛФ, Од/л	ГГТП, Од/л	Альбумін, г/л	Ш, %
ІР $\geq 3,5$ од	113	14,20 \pm 0,31	18,58 \pm 0,95	17,43 \pm 0,61	134,85 \pm 7,33	11,38 \pm 0,59	44,41 \pm 0,66	96,0 \pm 1,36
ІР $\leq 3,5$ од	113	14,01 \pm 0,31	16,80 \pm 0,59	16,24 \pm 0,56	126,45 \pm 6,35	8,86 \pm 1,35	44,30 \pm 0,69	95,27 \pm 0,97
Вірогідність відмінностей		p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05

Таблиця 2

Ліпідний спектр крові у підлітків з ожирінням залежно від наявності ІР ($M \pm \sigma$)

Групи хворих	n	ХС, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	ХС ЛПВЩ, ммоль/л	ХС ЛПНЩ, ммоль/л	ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	ІА, ум. од.
ІР $\geq 3,5$ од	113	4,12 \pm 0,08	1,28 \pm 0,07	1,02 \pm 0,03	3,67 \pm 0,12	0,58 \pm 0,03	3,18 \pm 0,18
ІР $\leq 3,5$ од	113	4,17 \pm 0,08	0,90 \pm 0,07	1,11 \pm 0,03	3,50 \pm 0,12	0,41 \pm 0,03	3,01 \pm 0,16
Вірогідність відмінностей		p > 0,05	p < 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p < 0,05	p > 0,05

Таблиця 3

Біохімічні показники фіброгенезу печінки у підлітків з ожирінням залежно від наявності ІР ($M \pm \sigma$)

Групи хворих	n	Колаген ІV типу, мкг/л	Фібронектин, мкг/мл
ІР $\geq 3,5$ од	113	107,61 \pm 7,04	115,86 \pm 7,20 *
ІР $\leq 3,5$ од	113	103,76 \pm 8,31	93,00 \pm 6,31
Група контролю	20	85,91 \pm 2,38	78,36 \pm 2,12
Вірогідність відмінностей порівняно з контролем		p < 0,05	p < 0,05

Примітка: * — вірогідність відмінностей між групами з ІР та без ІР (p < 0,05)

із наявністю ІР (3,67 \pm 0,12 та 3,50 \pm 0,12 відповідно) (p > 0,05). Індекс атерогенності (ІА) у дітей з ожирінням та ІР становив 3,18 \pm 0,18 та 3,01 \pm 0,16 без ІР (p > 0,05).

Дослідження вмісту компонентів ЕЦМ печінки і фіброгенезу у дітей виявило достовірне підвищення рівнів колагену ІV типу: 107,61 \pm 7,04 у обстежених з ІР; 103,76 \pm 8,31 без ІР; 85,91 \pm 2,38 у дітей групи контролю (p < 0,05) та фібронектину: 115,86 \pm 7,20 у обстежених з ІР; 93,00 \pm 6,31 без ІР; 78,36 \pm 2,12 у дітей групи контролю (p < 0,05). Показники фібронектину крові достовірно відрізнялися у групах залежно від наявності ІР (табл. 3), що вірогідно пов'язане з більш тяжким ураженням печінки у підлітків з ІР (p < 0,05).

ВИСНОВКИ

Виявлені порушення ліпідного спектра крові атерогенного характеру і стан інсулінорезистентності, встановлений у 50,0 \pm 3,33 % хворих на ожиріння, роблять можливим визначення груп ризику щодо розвитку метаболічного синдрому серед дітей та підлітків.

Показники білкового та пігментного обмінів перебували в межах вікової норми та не мали вагомих відмінностей залежно від наявності інсулінорезистентності у підлітків з ожирінням.

Установлені зміни компонентів екстрацелюлярного матриксу печінки у підлітків з ожирінням указують на наявність процесів фіброгенезу вже на початкових етапах

формування жирової хвороби печінки. Це дає змогу об'єктивно відбирати хворих, які потребують проведення біопсії печінки для визначення ступеня фіброзу та розробки стратегії антифібротичної терапії.

Неінвазивні методи діагностики з використанням сироваткових маркерів фіброзу печінки

(колагену IV типу та фібронектину) є швидкими і високочутливими тестами. У перспективі їх можна застосовувати як для скринінгової діагностики, так і для спостереження в динаміці за процесом фіброгенезу печінки, що відкриває у майбутньому нові шляхи діагностики та прогнозу захворювання.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Бабак О. Я.* Сывороточные биомаркеры и фибротесты в диагностике фиброза печени: недостатки и перспективы / О. Я. Бабак, Н. А. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. — 2012. — № 3 (65). — С. 71–80.
2. *Пирогова И. Ю.* Диагностика фиброза печени: инвазивные и неинвазивные методы / И. Ю. Пирогова, С. А. Пышкин // Сибирский мед. журн. — 2011. — № 3. — С. 10–15.
3. *Федоров И. Г.* Неалкогольный стеатогепатит: клиника, патогенез, диагностика, лечение / И. Г. Федоров, И. Г. Никитин, Г. И. Сторожаков // Consilium medicum. — 2004. — Т. 6. — № 6. — С. 401–405.
4. Функціональні захворювання печінки та порушення ліпідного спектру крові у дітей та підлітків з ожирінням / Л. К. Пархоменко, Л. А. Страшок, О. А. Будрейко [та ін.] // Гастроентерологія. — 2011. — № 45. — С. 125–131.
5. *Хазанов А. И.* Возможности прогрессирования алкогольного и неалкогольного стеатогепатита в цирроз печени / А. И. Хазанов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2005. — Т. 15. — № 2. — С. 26–32.
6. *Bacon B. R.* Clinical course and prognosis of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) / B. R. Bacon // Falk Symposium Steatohepatitis. — Den Haag. — 2000. — P. 17–21.
7. *Cholongitas E.* A systematic review of the quality of liver biopsy specimens / E. Cholongitas, M. Senzolo, R. Standish [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. — 2006. — Vol. 125. — P. 710–721.
8. *Hurley K. M.* A systematic review of responsive feeding and child obesity in high-income countries / K. M. Hurley, M. B. Cross, S. O. Hughes // J. Nutr. — 2011. — Vol. 141 (3). — P. 495–501.
9. *Ishak K.* Histological grading and staging of chronic hepatitis / K. Ishak, A. Baptista, L. Bianchi [et al.] // J. Hepatol. — 1995. — Vol. 22. — P. 696–699.
10. *Knodell R. G.* Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R. G. Knodell, K. Ishak, W. C. Black [et al.] // Hepatol. — 1981. — Vol. 1. — P. 431–435.
11. *Kotronen A.* Fatty liver: a novel component of the metabolic syndrome / A. Kotronen, H. Yki-Jarvinen // Arterioscler. Thromb. Vas. Biol. — 2008. — Vol. 28 (1). — P. 27–38.
12. *Reynaert H.* The treatment of non-alcoholic steatohepatitis with thiazolidinediones / H. Reynaert, A. Geerts, J. Henrion // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2005. — Vol. 22. — № 10. — P. 897–905.
13. *Sanai F. M.* Liver biopsy for histological assessment: the case against / F. M. Sanai, E. B. Keeffe // Saudi J. Gastroenterol. — 2010. — Vol. 16 (2). — P. 124–132.
14. *Sporea I.* Why, who and how should perform liver biopsy in chronic liver diseases / I. Sporea, A. Popescu, R. Sirli // World J. Gastroenterol. — 2008. — Vol. 14 (21). — P. 3396–3402.
15. *Wieckowska A.* Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future / A. Wieckowska, A. J. McCullough, A. E. Feldstein // Hepatology. — 2007. — Vol. 46. — 582–589.