



О.Я. Бабак, Н.А. Кравченко

ГУ «Институт терапии имени Л.Т. Малой
НАМН Украины», Харьков

Сывороточные биомаркеры и фибротесты в диагностике фиброза печени: недостатки и перспективы

Ключевые слова

Неалкогольная жировая болезнь печени, фиброз печени, фибротесты, биомаркеры.

На протяжении последних 50 лет биопсия печени является золотым стандартом для определения стадии фиброза печени. Этот метод позволяет не только получить информацию о фиброзе, но и выявить другие повреждения печени (воспаление, некроз, накопление железа и меди). Существенными недостатками данного метода являются недоступность, высокая стоимость, неточность патологических интерпретаций [3]. Кроме этого, существует определенный риск заболеваемости и смертности, болезненности анализа, возникновения гипотензии и внутренних кровотечений, повреждения билиарной системы. Частота госпитализации после биопсии составляют 1–5 %, серьезных осложнений — 0,57 %, смертности — 0,009–0,12 % [45]. По этим причинам многие пациенты отказываются от биопсии. В последние годы значительно возрос интерес к разработке неинвазивных биохимических суррогатных маркеров. Сывороточные тесты фиброза печени, как альтернатива биопсии печени, дешевле, безопаснее и более точные. Отсутствие точных неинвазивных методов выявления фиброза печени на ранних стадиях и определения степени фиброза является основным лимитирующим фактором при проведении клинических и научных исследований патологии печени.

Трудности разработки неинвазивных биомаркеров фиброза печени заключаются в том, что процессы фиброгенеза, помимо патологических состояний, также сопровождают нормальный ответ на повреждение, инвазию патогенов и многие другие этиологические факторы. Другая пробле-

ма заключается в точности оценки степени фиброза и стоимости биомаркеров или панели биомаркеров. Основываясь на клинических и научных данных, идеальный маркер фиброза печени должен соответствовать следующим требованиям: быть высокочувствительным и специфичным в идентификации различных стадий фиброза; простым в использовании, безопасным, недорогим и воспроизводимым; применимым для мониторинга прогрессирования или регрессии заболевания; чувствительным, специфичным, способным отличить воспаление, вызванное другими заболеваниями.

Биология фиброза печени, основные биомаркеры

Маркеры фиброза разделяют на основные и неосновные. К основным относят маркеры, являющиеся фрагментами матрикса печени, продуцируемого звездчатыми клетками печени (ЗКП) в процессе ремоделирования внеклеточного матрикса. Неосновные маркеры — это молекулы, высвобождаемые в кровь вследствие воспаления печени, регуляторные молекулы, синтезируемые и секретируемые печенью, а также маркеры, характеризующие процессы повреждения функции печени, такие как инсулинорезистентность. Основные и неосновные маркеры могут быть использованы отдельно и в комбинации.

Основным источником продукции внеклеточного матрикса являются миофибробласты (МФ). Многие типы клеток различного происхождения способны превращаться в фиброген-

ные МФ. Некоторые эпителиальные клетки, включая гепатоциты и билиарные эпителиальные клетки (холангиоциты) могут активироваться и функционировать как МФ посредством эпителиально-мезинхимальной транзиции [37], но основным источником МФ в печени являются покоящиеся ЗКП, также известные как клетки Ito или перисинусоидальные клетки пространства Disse, накапливающие ретиноиды.

Карбокситерминальный пептид проколлагена I типа (PICP) и аминотерминальный пептид проколлагена III типа (PIIINP) относятся к основным маркерам. При фиброгенезе уровень PICP увеличивает в 8 раз. Соотношение I/III коллагенов изменяется от 1:1 при отсутствии заболевания до 1:2 при циррозе печени [10]. При остром гепатите уровень сывороточного PIIINP коррелирует с уровнем аминотрансфераз. В случае хронической болезни печени уровень PIIINP отражает стадию фиброза печени [18], но этот показатель не является специфичным, так как его повышение имеет место также в случае акромегалии, фиброза легких, хронического панкреатита и при ревматологических заболеваниях.

Матриксные металлопротеиназы (MMPs) разрушают внеклеточный матрикс и базальные мембраны. В качестве маркеров фиброза исследуют три MMPs: MMP-2 (желатиназа-A), MMP-3 (стромелизин), MMP-9 (желатиназа-B). Перспективность MMP-2 как маркера фиброза печени подвергается сомнению. В отличие от MMP-2 значимость оценки уровня MMP-9 доказана в диагностике гепатоцеллюлярной карциномы. Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMPs) модулируют активность и функции MMPs. TIMP-1 контролирует активность большинства MMPs. TIMP-2 специфически ингибирует MMP-2. TIMPs-зависимое ингибирование деградации внеклеточного матрикса может способствовать развитию фиброза печени. При хронической болезни печени активность TIMPs повышена [2].

Трансформирующий фактор роста β_1 (TGF- β_1) — цитокин с плейотропным действием — участвует в росте тканей, дифференциации, продукции внеклеточного матрикса и иммунном ответе. Известны три формы этого фактора, но только TGF- β_1 связан с фиброгенезом печени [3]. Его значимость как маркера фиброза интенсивно исследуется.

Гиалуроновая кислота (ГК) относится к глюкозаминогликанам и является компонентом внеклеточного матрикса, синтезируемого ЗКП. ГК признана лучшим биомаркером фиброза печени (площадь под ROC-кривой (AUROC) составляет 0,97) [21]. Негативное прогностическое значе-

ние (NPV) ГК выше по сравнению с позитивным (PPV) (соответственно 98—100 и 61 %), что является основным преимуществом этого показателя в определении прогрессирующего фиброза и цирроза [10].

В качестве маркеров, имеющих отношение к ремоделированию и деградации внеклеточного матрикса, также рассматривают Ykl-40 (хондрекс), ламинин, фактор роста соединительной ткани [3]. Параоксаназа 1 (PON-1) обладает антиоксидантными свойствами, гидролизует липидные пероксиды, оказывает влияние на апоптотические процессы. Фермент был предложен в качестве потенциального теста для оценки функции печени, но его клиническое применение ограничено из-за нестабильности и токсичности субстрата параоксона [6]. Базальная и стимулированная активность PON-1 снижена в случае хронического гепатита и при циррозе. Дополнительное к пяти стандартным биохимическим тестам измерение активности PON-1 повышает точность определения гепатита.

Использование основных сывороточных биомаркеров фиброза ограничено, поскольку они отражают интенсивность процессов накопления и деградации. Накопление матрикса может не определяться при отсутствии воспаления.

Фибротесты, неосновные биомаркеры фиброза

Ни один из существующих маркеров не отвечает требованиям, изложенным выше, но несколько маркеров, включенных в фибротест, более точно выявляют патологию и ее стадии (табл. 1).

Соотношение активности ферментов, поступающих в кровь из поврежденных гепатоцитов (АСТ/АЛТ), является компонентом многих тестов. В случае жировой инфильтрации печени и при многих формах острого и хронического повреждения печени величина этого показателя равна единице или меньше, но при алкогольном гепатите часто бывает больше 2.

Индекс APRI (AST-to-platelet ratio index) использовали как суррогатный маркер для выявления значительного фиброза печени при коинфекции HIV-HCV. В настоящее время его также применяют для определения прогрессирующего фиброза при моноинфекции HIV [7, 19], но последний мета-анализ показал, что этот тест может идентифицировать фиброз, связанный с гепатитом C, только с умеренной степенью точности.

Индекс PGA включает анализ таких показателей, как протромбиновый индекс, уровень гамма-глутимилтрансферазы (ГГТ) и аполипопротеина A1 (апоA1). Модификация этого индекса

Таблица 1. Чувствительность и специфичность сывороточных тестов/маркеров в диагностике фиброза печени

Тест	Компоненты	Количество пациентов	Cut-offs	Степень фиброза	Чувствительность/специфичность, %	PPV/NPV, %	AUROC	Источник	
AAR	АСТ, АЛТ	145	0,8	Прогрессирующий фиброз	53/100	—/93	0,83	[9]	
		541	—	Прогрессирующий фиброз	74/78	—	0,742	[40]	
APRI	АСТ, количество тромбоцитов	235	—	Значительный фиброз	89/75	—	0,866	[7]	
				Тяжелый фиброз	—	—	0,861		
		541	—	Цирроз	—	—	0,842	[40]	
				Прогрессирующий фиброз	—	—	0,73		
145	—	Прогрессирующий фиброз	—	—	0,67	[29]			
PGA	Протромбиновый индекс, ГГТ, апоА1	—	—	—	91/81	—	—	[20]	
Forns индекс	Возраст, количество тромбоцитов, ГГТ, уровень ХС	—	—	—	94/51	—	—	[34]	
FibroSpect II	ГК, TIMP-1, α_2 -МГ	—	—	—	84/67	—	—	[30]	
FibroTest/ FibroSure	Возраст, пол, α_2 -МГ, γ_2 -глобулин, апоА1, ГГТ, общий билирубин	170	0,3 0,7	F \geq 2 (Brunt/Kleiner)	77/77	73/76	0,88	[30]	
					15/98	33/98	—		
				0,3 0,7	F \geq 3 (Brunt/Kleiner)	92/71	60/89		—
						25/97	—		0,84
FibroMeter	Возраст, масса тела, уровень глюкозы натощак, АСТ, АЛТ, ферритин, количество тромбоцитов	235	—	F \geq 2 (Metavir)	78,5/95,9	87,9/92,1	0,943	[5]	
		114	<0,61	F0, F1 и F3, F4	—	—	0,952	[4]	
				F1, F2 и F3, F4	—	—	0,950		
—	—	—	—	F0—F3 и F4	—	—	0,880		
HeraScore	Возраст, количество тромбоцитов, ГГТ, α_2 -МГ	512	—	Прогрессирующий фиброз	—	—	0,81	[11]	
				Тяжелый фиброз	63/89	—	0,82		
FIB-4	Количество тромбоцитов, АСТ, АЛТ, возраст	54	—	HIV-HCV-коинфекция (Ishak) 0—3 и 4—6	70/74	80/90	0,802	[42]	
				HCV, прогрессирующий фиброз	70/97	—	0,85	[44]	
		145	—	Цирроз	—	—	0,91		
SHASTA индекс	ГК, АСТ, альбумин	95	0,8 — <0,3	HIV-HCV-коинфекция	—/100	100/—	—	[16]	
					—/88	—/94	—		
OELF/ELF	Возраст, ГК, PIIINP, TIMP-1	182	—	F0 и F3, F4	90/41	—	0,98	[14]	
		138	—	—	51/77	45/81	0,67	[36]	
BARD шкала	АСТ/АЛТ, ИМТ, наличие диабета	827	—	Исключение прогрессирующего фиброза	—	—/96	0,81	[14]	
		541	—	Прогрессирующий фиброз	—	—	0,70	[40]	
		145	—	Прогрессирующий фиброз	89/44	25/95	0,77	[29]	

Таблица 1. Продолжение

Тест	Компоненты	Количество пациентов	Cut-offs	Степень фиброза	Чувствительность/ специфичность, %	PPV/NPV, %	AUROC	Источник
NFS	Возраст, гипергликемия, ИМТ, количество тромбоцитов, альбумин, АСТ/АЛТ	733	-1,455	F ≥ 3 (Brunt)	77/71	52/88	0,82*	[1]
			0,675	F ≥ 3 (Brunt)	—	—	0,768	[1]
		253	—	F ≥ 3 (Brunt)	—	—	0,81	[40]
		541	—	F ≥ 3 (Brunt)	—	72/92	0,884	[29]
		145	—	Тяжелый фиброз Цирроз	— —	— —	0,932 0,902	[4]
NASHTest	Возраст, пол, ИМТ, ТГ, ХС, α ₂ -МГ, ГГТ, АСТ, АЛТ, гаптоглобин, апоА1, общий билирубин	257	—	Стеатоз ≥ 5 (Kleiner)	29/98	91/71	0,79	[31]
SteatoTest	6 параметров FibroTest + ИМТ, ХС, ТГ, глюкоза, возраст, пол	257	—	—	85–100/ 83–100	—	—	[31]
Palecar индекс	Возраст > 50 лет, женский пол, АСТ ≥ 45 ЕД/л, АСТ/АЛТ ≥ 0,8, ИМТ ≥ 30 кг/м ² , гиалуронат ≥ 55 мкг/л	80	—	F ≥ 3 (Brunt)	74/66	68/71	0,76	[27]
Shimada индекс	Уровень сывороточного адипонектина, НОМА-IR, 7s коллаген IV типа	85	—	Стеатоз ≥ 5 (Kleiner)	94/74	94/74	—	[41]
ВААТ шкала	ИМТ, возраст, АЛТ, ТГ	733	—	F ≥ 2 (Metavir)	71/80	61/86	0,84	[33]
NS шкала	7s коллаген IV типа, ГК	112	Колл. ≥ 5 или ГК ≥ 50	F ≥ 3 (Brunt)	96/63	66/95	—	[3]
			Колл. ≥ 5 и ГК ≥ 50		54/92	84/73	—	

Примечание. *Тест широко используется в клинической практике.

АСТ — аспаратаминотрансфераза, АЛТ — аланинаминотрансфераза; апоА — аполипопротеин-А; НАЖБП — неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ — неалкогольный стеатогепатит; ИМТ — индекс массы тела; α₂-МГ — α₂-макроглобулин; ГГТ — гамма-глутаминтрансфераза; ТГ — триглицериды; ХС — холестерин.

(PGAA) дополнительно включает уровень α₂-макроглобулина (α₂-МГ). При хронической болезни печени индекс PGA связан с воспалением (p < 0,01) и фиброзом (p < 0,05), но точность определения степени фиброза остается относительно низкой [5] (см. табл. 1).

Индекс Forns включает три рутинных клинических анализа (см. табл. 1). Метод может быть использован для дифференциации пациентов со слабовыраженным (F0–F1) и значительно выраженным фиброзом (F2–F4), но точность дифференциации F2 от F4 низкая. Индекс Forns был применен как прогностический для контроля ответа на анти HCV-терапию [40].

У 512 пациентов с HCV тест НераScore был успешно применен для выявления прогрессирующего

фиброза (AUROC = 0,81), тяжелого фиброза (AUROC = 0,82) и цирроза (AUROC = 0,88). Важно, что тест НераScore может быть выполнен автоматически в одном образце [11] (см. табл. 1).

В тесте FIB-4 для оценки фиброза используют комбинацию возраста с тремя стандартными биохимическими анализами (см. табл. 1). Используя этот индекс при исследовании лиц с HIV-HCV-коинфекцией корректно классифицируют 87 % случаев фиброза. В дифференциации фиброза согласно классификации Ishak 0–3 от 4–6 AUROC составляет 0,765, чувствительность — 70 % и специфичность — 97 % [4, 5]. Этот тест был использован [44] в большой когорте пациентов с HCV-моноинфекцией. Значение AUROC составляло 0,85 для значительно выра-

женного фиброза и 0,91 — для цирроза [46]. У пациентов с НАЖБП при диагностике прогрессирующего фиброза тест FIB-4 демонстрирует сходные результаты с использованием соотношения АСТ/АЛТ. В случае cut-off 1,3 значение AUROC соответствует 0,86, чувствительность — 85 %, специфичность — 65 % и NPV — 95 %. При сравнении нескольких неинвазивных маркеров фиброза среди 541 пациента с НАЖБП FIB-4 показал более высокое значение AUROC (0,802), PPV и NPV (соответственно 80 и 90 %) для диагноза прогрессирующего фиброза. В этом исследовании для шкалы NFS (NAFLD fibrosis score) фиброза при НАЖБП, AAR, APRI, АСТ/количество тромбоцитов и шкалы BARD значение AUROC составляло соответственно 0,768, 0,742, 0,73, 0,72 и 0,70 [3, 40].

Индекс SHASTA был применен в когорте 95 пациентов с HIV-HCV-коинфекцией [16]. При использовании cut-off 0,8 специфичность метода составила 100 %, PPV — 100 %, но тест применим к менее чем 5 % пациентов. В случае cut off ниже 0,30 показатель специфичности составляет 88 %, NPV — 94 %. Более чем у 42 % пациентов определены крайние значения, 58 % классифицированы по шкале между 0,3 и 0,8. Индекс SHASTA у пациентов с HIV-HCV является предпочтительным по сравнению с тестом APRI (см. табл. 1).

В тесте FIBROSpect II для определения степени фиброза используют комбинацию таких показателей как ГК, TIMP-и α_2 -МГ (см. табл. 1). Этот тест был разработан для дифференциации слабо-выраженного фиброза (Metavir стадии F0–F1) от более тяжелых форм заболевания (Metavir стадии F2–F4) среди пациентов с HCV [28, 35].

FibroIndex показал высокую прогностичность при выявлении прогрессирующего фиброза, включая группу с HCV в случае нормального уровня АЛТ [3]. Чувствительность и специфичность теста FibroIndex в определении фиброза у пациентов с HCV составляет соответственно 78 и 74 %. В сравнительном исследовании диагностической значимости для определения прогрессирующего фиброза FibroIndex показал преимущества по сравнению с индексом Forns и APRI [3] (см. табл. 1).

Тест FibroMeter представляет собой модифицированную панель сывороточных маркеров для определения стадий фиброза при HCV (см. табл. 1). Тест показал хорошую диагностическую точность в определении стадий фиброза у пациентов с НАЖБП. AUROC составляет 0,943 для значительно выраженного фиброза, 0,937 — для цирроза. Чувствительность, специфичность, PPV и NPV FibroMeter для диагностики фиброза составляют соответственно 78,5;

95,9; 87,9 и 92,1 % [4]. Важным отличием FibroMeter от других тестов является возможность количественной оценки фиброза (доли фиброзной ткани печени). Другое преимущество FibroMeter заключается в том, что с помощью этого теста получают достоверные результаты благодаря экспертной системе, позволяющей определять ошибочные результаты. С помощью FibroMeter определяют стадию фиброза, соответствующую гистологической стадии системы Metavir, и степень фиброза, соответствующую площади фиброза, определяемой морфометрически [4].

NFS (NAFLD fibrosis score) включает анализ шести показателей (см. табл. 1). Анализ исследования 733 пациентов с НАЖБП из нескольких центров показал, что при низком значении cut-off (–1,455) NPV составляет 93 и 88 % для исключения и присутствия прогрессирующего фиброза соответственно. При высоком значении cut-off (0,676) значение PPV для диагностики наличия прогрессирующего фиброза составило 90 и 82 % (AUROC = 0,84). Применение этой модели для популяционных исследований исключало биопсию печени у 75 % пациентов, корректно прогнозировало у 90 % [1]. S. McPherson и соавт. установили AUROC — 0,81 со значениями NPV — 92 % и PPV — 72 %, последний показатель был самым высоким из четырех тестируемых систем [29]. Cales и др. установили AUROC 0,884 для значительного фиброза, 0,932 — для тяжелой формы фиброза и 0,902 — для цирроза [5]. Популяционными исследованиями в Восточной Азии продемонстрировано хорошую точность определения стадий фиброза, исключая прогрессирующий фиброз. Значения NPV составляли 89 и 91 % в когортах пациентов с НАЖБП в Японии [8] и Китае соответственно [46]. Тест также демонстрирует хорошую точность, исключая фиброз в случае морбидного ожирения, среди лиц с НАЖБП, подвергшихся бариатрической хирургии, NPV — 98; 87 и 88 % для исключения прогрессирующего, значительного и других форм фиброза соответственно. По результатам последнего метаанализа идентификации НАСГ с прогрессирующим фиброзом тест NFS показал высокие значения AUROC, чувствительности и специфичности — соответственно 0,85 (0,80–0,93), 0,90 (0,82–0,99) и 0,97 (0,94–0,99). NFS улучшает идентификацию пациентов с более тяжелыми формами заболевания и значительно снижает необходимость в проведении биопсии печени у некоторых пациентов [29].

Оригинальный ELF (European Liver Fibrosis) тест включает определение сывороточных маркеров (три маркера, отражающих метаболизм

матрикса (ГК, TIMP1 и PIIINP) в комбинации с возрастом). Упрощенная панель ELF исключает возраст, но имеет сходное с оригинальной диагностическое значение. Дополнительно к ELF пять простых маркеров (ИМТ, наличие диабета/повышение уровня глюкозы, АсАт/АлАт, количество тромбоцитов и альбумин) улучшают диагностическую точность (AUROC составляет соответственно 0,98, 0,93 и 0,84 для диагностики тяжелого, умеренного фиброза и его отсутствия) [12]. Панель ELF также может использоваться для прогноза (изменение на одну единицу ELF шкалы коррелирует с двукратным увеличением случаев смертности или заболеваемости на протяжении шести последующих лет) (см. табл. 1).

FibroTest является другим валидным маркером для количественного определения фиброза при НАЖБП, АЖБП и хронических вирусных гепатитах [30]. FibroTest и FibroSure включают идентичные маркеры, но названия тестов отличаются в Европе и Америке.

Комбинация пяти биохимических маркеров (гаптоглобин, α_2 -МГ, апоА1, общий билирубин и ГГТ), а также возраст и пол в метаанализе у пациентов с НАЖБП дает AUROC 0,84 для прогрессирующего фиброза. Этот тест также позволяет отличать стадии фиброза с незначительной дифференциацией между значениями AUROC для промежуточных близких стадий — F2 и F1, стадий F3 и F4 или F1 и F0 [30].

В исследовании 74 пациентов (у 36 из них был HCV, у 10 — HBV, у 28 — первичный билиарный цирроз) определено значение AUROC, которое составило 0,69 и 0,91 для диагностики значительно выраженного фиброза ($F \geq 2$) и цирроза [49]. Чувствительность и специфичность FibroTest оценена соответственно как 75 и 85 % для определения начальной стадии и тяжелой степени фиброза. В связи с вариабельностью компонентов метода и анализа FibroTest исследования необходимо проводить только в специализированных лабораториях [38].

FibroTest может также применяться с двумя другими панелями (SteatoTest и NASHTest), формирующими панель FibroMax (BioPredictive, Франция), которая позволяет комплексно оценить повреждение печени при НАЖБП. FibroTest/FibroMax предлагают в качестве неинвазивного общепринятого теста как альтернативу биопсии печени [24].

Панель BARD предназначена для идентификации пациентов с НАЖБП с низким риском прогрессирования заболевания. Тест включает ИМТ, АСТ/АЛТ и наличие диабета (ИМТ > 28 кг/м² — 1 точка или пункт, АСТ/АЛТ $\geq 0,8$ — 2 точки, диабет — 1 точка) [21]. Применение шкалы BARD

для анализа степени фиброза среди 138 пациентов, у которых наличие фиброза определено по данным биопсии, показало, что AUROC составляет 0,67, чувствительность — 51 %, специфичность — 77 %, PPV — 45 % и NPV — 81 % [36]. В другом исследовании, включавшем 145 пациентов, сравнивали эффективность применения тестов BARD, NAFLD fibrosis score (NFS), FIB-4, АСТ/тромбоциты, АЛТ/АСТ для идентификации прогрессирующего фиброза. По данным этих исследований, AUROC составляет 0,77, чувствительность — 89 %, специфичность — 44 %, PPV — 25 % и NPV — 95 % [29]. BARD — легкий в использовании метод, который предлагают применять для исключения прогрессирующего фиброза.

Комбинация APRI, индекса Forns и FibroTest позволила снизить необходимость в проведении биопсии печени у 50–70 % пациентов с гепатитом С [3]. В другом исследовании большой когорты пациентов с гепатитом С ($n = 2035$) были объединены тест APRI с FibroTest-FibroSure (тест известен как SAFE — sequential algorithm for fibrosis evaluation). Точность определения фиброза с помощью теста SAFE составляет 92,5 % и позволяет избежать биопсии у 81,5 % пациентов.

В отличие от пациентов с гепатитом С в случае НАЖБП только небольшое число сывороточных маркеров можно использовать для оценки фиброза печени. К ним относят панель маркеров ВААТ, NAFLD шкалу [1], ELF [12, 34], FibroMeter [4], FibroTest [33], ГК [43] и NFS [32, 38]. Диагностическое значение предлагаемых тестов и маркеров приведено в табл. 2.

Для оценки фиброза печени у лиц с НАЖБП разработаны две дополнительные панели. Первая — Simple Test — включает возраст, гипергликемию, ИМТ, количество тромбоцитов, альбумина и АСТ/АЛТ [20]. Использование этого теста позволяет корректно определить стадию фиброза у 90 % пациентов и избежать биопсии печени у 75 % пациентов. Дополнительное применение другой панели для определения фиброза печени — OELF (Original European Liver Fibrosis) [27], включающей возраст, ГК, PIIINP и TIMP1, улучшает результаты. Упрощенным вариантом теста OELF является ELF, который не включает возраст [39]. Результаты, полученные при использовании этих двух тестов, были идентичны. Использование панели ELF для выявления тяжелых форм фиброза позволяет достигнуть высокой степени специфичности и чувствительности и только 14 % пациентам с НАЖБП требовалась биопсия. При комбинации Simple Test/ELF панелей значение AUROC достигает 0,98 для дифференциации тяжелой формы фиброза от на-

Таблица 2. Оценка неинвазивных тестов в диагностике фиброза печени у пациентов с НАЖБП

Маркер	Количество пациентов	Шкала	Стадии фиброза	Cut-off	AUROC	Чувствительность, %	Специфичность, %	PPV, %	NPV, %			
BAAT	93	Metavir	≥ 2	2	0,84	71	80	61	86			
NFS	733	Brunt	≥ 3	≤ 1,455	0,82*	77	71	52	88			
ELF	61	Scheuer	≥ 3	0,375	0,87	89	96	80	98			
				0,462	–	78	98	87	96			
				≥ 1	–0,207	0,76	61	80	81	79		
FibroMeters	235	Metavir	≥ 2	–	0,94	78,5	95,9	87,9	92			
				170	Brunt	≥ 2	0,3	0,81	77	77	54	90
				FibroTest	97	Kleiner	≥ 3	0,3	0,88	15	98	73
0,7	–	92	71					33	98			
Гиауруонат	79	Brunt	≥ 3					46,1	0,92	85	80	51
NS	112	Brunt	≥ 3	Коллаген ≥ 5 или ГК ≥ 5	–	96	63	66	95			
				Коллаген ≥ 5 и ГК ≥ 5	–	54	92	84	73			

альной стадии [39]. Другие потенциальные биомаркеры фиброза, включая домен 7S коллагена типа IV и ГК, впоследствии были включены в ELF-тест. Применение этих биомаркеров у 112 пациентов с НАЖБП позволило определить прогрессирующий фиброз (PPV – 86 и 92 %, AUROC – 0,83 и 0,80 для отличия НАСГ от простого стеатоза). У 72 пациентов с НАСГ для определения прогрессирующего фиброза значение AUROC для 7S домена коллагена IV типа и ГК составляло соответственно 0,767 и 0,754. После проведения регрессивного анализа только домен 7S коллагена типа IV независимо ассоциировался с прогрессирующим фиброзом [49].

В других исследованиях для выявления прогрессирующего фиброза при различных cut-off для уровня ГК значение AUROC составляло 0,89–0,97 [43]. Н. Kaneda и соавт. продемонстрировали, что для ГК AUROC, NPV, чувствительность и специфичность составляли соответственно 0,97; 100; 100 и 89 % в случае выявления тяжелой степени фиброза, для 7S домена коллагена IV продемонстрировано низкое значение AUROC – 0,87 [15]. В этом исследовании количество тромбоцитов было независимым предиктором цирроза (AUROC – 0,98, чувствительность, специфичность, PPV и NPV – соответственно 100; 95; 76 и 100 %). С.Р. Lesmana и соавт. также продемонстрировали преимущества использования ГК и 7S домена коллагена IV типа для дифференциации слабовыраженного

фиброза (F1–F2) от прогрессирующего (F3–F4) [17]. Среди 80 пациентов с НАЖБП при комбинации таких показателей, как уровень ГК, аспартатаминотрансферазы, ААР, возраст, пол и ИМТ, для отличия простого стеатоза от НАСГ значение AUROC составляло 0,763 [27].

Перспективы применения и диагностическое значение новых маркеров фиброза

Апоптоз играет важную роль в повреждении печени при НАЖБП. Уровень цитокератина-18 (CR-18) используют в качестве маркера этого процесса. Некоторые исследователи предлагают использовать CR-18 в качестве биомаркера не только для диагностики, но и для дифференциации НАСГ от простого стеатоза [22, 47, 48]. Эффективность этого показателя для диагностики НАСГ была исследована в метаанализе результатов исследований за 2010 год. AUROC, чувствительность и специфичность CR-18 для НАСГ составляли соответственно 0,82 (0,78–0,88), 0,78 (0,64–0,92) и 0,87 (0,77–0,98) [25] (табл. 3).

М. Zobaiz и соавт. [50], оценивая диагностическое значение уровня CR-18 у лиц с гистологически установленным НАСГ, получили аналогичные результаты. Чувствительность показателя составляла 64 %, специфичность – 89 %, AUROC – 0,814. Уровень M30 антигена (неполная форма CR-18) диагностирует НАСГ с чувствительностью – 70 % и специфичностью –

Таблица 3. Диагностическое значение маркеров фиброза

Маркер	Фиброз	Чувствительность/ Специфичность, %	PPV/NPV, %	AUROC	Источник
CR-18	НАСГ	78/87	—	0,82	[30]
CR-18 M30 антиген	НАСГ	70/83,7	—	0,711	[47]
CR-18 M65 антиген		63,6/89,4		0,814	
M30 антаген	НАСГ	95/70	—	0,91	[50]
M65 антиген					
Адипонектин и резистин	Прогрессирующий фиброз	100/89	—/100	0,89	[15]
Гиалуроновая кислота				0,97	[43]
				Тяжелый фиброз	0,97
7S домен коллагена VI типа	НАСГ	—	—	0,87	[39]
Ламинин	НАСГ	82/89	82/89	—	[39]
Ламинин + коллаген VI типа	НАСГ	64/100	100/83	—	[39]
Гомоцистеин	НАСГ	91,7/95,5	—	0,984	[13]
MFAP-4	Цирроз	—	—	0,97	[23]

83,7 % (AUROC — 0,711; $p < 10^{-4}$). Диагностическое значение интактного CR-18 (антитела M65) было выше (чувствительность — 63,6 %, специфичность — 89,4 %, AUROC — 0,814; $p < 10^{-4}$). Комбинации этих показателей с факторами адипоцитарного происхождения (уровень адипонектина и резистина) повышают чувствительность определения НАСГ до 95,45 %, специфичность — до 70,21 % и AUROC — до 0,908 ($p < 10^{-4}$). Тест позволяет отличить НАСГ от простого стеатоза. В другом исследовании комбинация четырех иммуноферментных тестов (фрагментированный и интактный CR-18, адипонектин и резистин сыворотки крови) позволила повысить чувствительность анализа до 96 %, специфичность — до 70 %, AUROC — до 0,91.

Определение уровня гомоцистеина позволяет отличить НАСГ от простого стеатоза с достаточно высокой степенью точности. Чувствительность и специфичность для определения НАСГ составили соответственно 91,7 и 95,5, AUROC — 0,984 [13].

В небольшом исследовании ($n = 30$) сывороточный компонент внеклеточного матрикса — ламинин (> 282 нг/мл) показал точность 87 %, чувствительность — 82 %, специфичность — 89 %, PPV — 82 % и NPV — 89 % для идентификации наличия НАСГ и фиброза. При комбинировании этого показателя с коллагеном IV типа специфичность и PPV повышались до 100 %, но чувствительность метода и NPV снижались соответственно до 64 и 83 %. M. Shimada и соавт. [41] изучали биохимические сывороточные маркеры, позволяющие выявить НАСГ на ранних

стадиях. Исследовали 19 пациентов с простым стеатозом и 66 — с ранней стадией НАСГ (стадия 1–2 согласно критериям Brunt). Уровень адипонектина сыворотки крови был значительно ниже в группе с ранней стадией НАСГ. Почти 90 % пациентов с ранней стадией НАСГ имели повышенный показатель НОМА-IR (homeostasis model assessment) и уровень 7S домена коллагена IV типа.

Сывороточная концентрация A/ α_2 HS-гликопротеина (АНСГ), синтезируемого исключительно печенью, связана с метаболическими изменениями и может служить индикатором функции клеток печени. Y. Yilmaz и соавт. определяли уровень АНСГ у пациентов с НАЖБП и оценивали его связь с клиническими, биохимическими и гистологическими фенотипами. Уровень АНСГ был значительно выше у пациентов с НАЖБП ((940 ± 120) мкг/мл) по сравнению с контролем ((800 ± 130) мкг/мл; $p < 0,001$). Бивариантный анализ показал наличие статистически значимой связи между уровнем АНСГ, инсулинорезистентностью, оцененной по индексу НОМА, и шкалой фиброза печени ($r = 0,36$; $p < 0,001$) [48].

Связанный с микрофибриллами гликопротеин-4 (MFAP-4) является лигандом интегринов. Применение этого маркера обеспечивает высокую точность в диагностике цирроза (AUROC — 0,97; $p < 0,0001$) и позволяет дифференцировать стадию 0 от 4-й стадии фиброза [23].

Таким образом, ограниченное применение основных сывороточных биомаркеров фиброза объясняется тем, что эти маркеры не являются

специфичними и их уровень может повышаться при наличии сопутствующих очагов воспаления. Сывороточный уровень маркеров зависит от скорости клиренса, на который оказывают влияние дисфункция эндотелиальных клеток, нарушение билиарной экскреции или почечная дисфункция. Дисфункция синусоидального

эпителия или нарушение билиарной экскреции могут изменить клиренс маркеров фиброза. Только небольшое число сывороточных маркеров позволяет оценить степень фиброза печени у пациентов с НАЖБП. К ним относятся ВААТ-шкала, NAFLD, ELF-тест, FibroMeter, FibroTest, ГК и NS-шкала.

Список литературы

- Angulo P, Hui J.M., Marchesini G. et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD // *Hepatology*.— 2007.— Vol. 45.— P.846—854.
- Badra G., Lotfy M., El-Refaie A. et al. Significance of serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in chronic hepatitis C patients // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*— 2010.— Vol. 57, N 1.— P. 29—42.
- Baranova A., Priyanka Lal., Aybike Bicerdinc et al. Non-invasive markers for hepatic fibrosis // *BMC Gastroenterology*.— 2011.— Vol. 11.— P. 91.
- Cales P., Laine F., Boursier J. et al. Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD // *J. Hepatol.*— 2009.— Vol. 50.— P. 165—173.
- Cales P., Boursier J., Oberti F. et al. FibroMeters: a family of blood tests for liver fibrosis // *Gastroenterol. Clin. Biol.*— 2008.— Vol. 32, N 6, suppl. 1.— P. 40—51.
- Camps J., Marsillach J., Joven J. Measurement of serum paraoxonase-1 activity in the evaluation of liver function // *World J. Gastroenterol.*— 2009.— Vol. 15, N 16.— P. 1929—1933.
- DallaPiazza M., Amorosa V.K., Localio R. et al. Prevalence and risk factors for significant liver fibrosis among HIV-monoinfected patients // *BMC Infect. Dis.*— 2010.— Vol. 10.— P. 116—121.
- Fujii H., Enomoto M., Fukushima W. et al. Applicability of BARD score to Japanese patients with NAFLD. // *Gut.*— 2009.— Vol. 58.— P. 1566—1567.
- Giboney P.T. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient // *Am. Fam. Physician.*— 2005.— Vol. 71, N 6.— P. 1105—1110.
- Gressner O.A., Gressner A.M. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases // *Liver Int.*— 2008.— Vol. 28.— P. 1065—1079.
- Guechot J., Lasnier E., Sturm N. et al.; ANRS HC EP 23 Fibrostar study group. Automation of the Hepascore and validation as a biochemical index of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C from the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort // *Clin. Chim. Acta.*— 2010.— Vol. 411, N 1—2.— P. 86—91.
- Guha I.N., Parkes J., Roderick P. et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers // *Hepatology*.— 2008.— Vol. 47.— P. 455—460.
- Gulsen M., Yesilova Z., Bagci S. et al. Elevated plasma homocysteine concentrations as a predictor of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease // *J. Gastroenterol. Hepatol.*— 2005.— Vol. 20.— P. 1448—1455.
- Harrison S.A., Oliver D., Arnold H.L. et al. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease // *Gut.*— 2008.— Vol. 57.— P. 1441—1447.
- Kaneda H., Hashimoto E., Yatsuji S. et al. Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *J. Gastroenterol. Hepatol.*— 2006.— Vol. 2.— P. 1459—1465.
- Kelleher T.B., Mehta S.H., Bhaskar R. et al. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: The SHASTA index // *J. Hepatol.*— 2005.— Vol. 43 (1).— P. 78—84.
- Lesmana C.R., Hasan I., Budihusodo U. et al. Diagnostic value of a group of biochemical markers of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis // *J. Dig. Dis.*— 2009.— Vol. 10.— P. 201—206.
- Lieber C.S., Weiss D.G., Paronetto F. Veterans Affairs Cooperative Study 391 Group. Value of fibrosis markers for staging liver fibrosis in patients with precirrhotic alcoholic liver disease // *Alcohol Clin. Exp. Res.*— 2008.— Vol. 32, N 6.— P. 1031—1039.
- Lin Z.H., Xin Y.N., Dong Q.J. et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C related fibrosis: an updated meta-analysis // *Hepatology*.— 2011.— Vol. 53, N 3.— P. 726—736.
- Lu L.G., Zeng M.D., Mao Y.M. et al. Relationship between clinical and pathologic findings in patients with chronic liver diseases // *World J. Gastroenterol.*— 2003.— Vol. 9, N 12.— P. 2796—2800.
- Lydatakis H., Hager I.P., Kostadelou E. et al. Noninvasive markers to predict the liver fibrosis in non alcoholic fatty liver disease // *Liver Int.*— 2006.— Vol. 2.— P. 864—871.
- Mitry R.R. Noninvasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease using serum biomarkers // *Hepatology*.— 2007.— Vol. 46.— P. 2047—2048.
- Molleken C., Sitek B., Henkel C. et al. Detection of novel biomarkers of liver cirrhosis by proteomic analysis // *Hepatology*.— 2009.— Vol. 49, N 4.— P. 1257—1266.
- Munteanu M., Ratziu V., Morra R. et al. Noninvasive biomarkers for the screening of fibrosis, steatosis and steatohepatitis in patients with metabolic risk factors: FibroTest-FibroMax experience // *J. Gastrointest. Liver Dis.*— 2008.— Vol. 17.— P. 187—191.
- Musso G., Gambino R., Cassader M., Pagano G. Meta-analysis: Natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity // *Ann. Med.*— 2011.— Vol. 43, N 8.— P. 617—649.
- Nguyen-Khac E., Chatelain D., Tramier B. et al. Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using FibroScan: prospective comparison with seven non-invasive laboratory tests // *Aliment. Pharmacol. Ther.*— 2008.— Vol. 28 (10).— P. 1188—1198.
- Palekar N.A., Naus R., Larson S.P. et al. Clinical model for distinguishing nonalcoholic steatohepatitis from simple steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *Liver Int.*— 2006.— Vol. 26.— P. 151—156.
- Patel K., Nelson D.R., Rockey D.C. et al. Correlation of FIBROSpect II with histologic and morphometric evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol.*— 2008.— Vol. 6, N 2.— P. 242—247.
- McPherson S., Stewart S.F., Henderson E. et al. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease // *Gut.*— 2010.— Vol. 59.— P. 1265—1269.
- Poynard T., Morra R., Halfon P. et al. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease // *BMC Gastroenterol.*— 2007.— Vol. 7.— P. 40.
- Poynard T., Ratziu V., Charlotte F. et al. Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steatohepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *BMC Gastroenterol.*— 2006.— Vol. 6.— P. 34.
- Qureshi K., Clements R.H., Abrams G.A. The utility of the «NAFLD fibrosis score» in morbidly obese subjects with NAFLD // *Obes Surg.*— 2008.— Vol. 18.— P. 264—270.
- Ratziu V., Massard J., Charlotte F. et al. Diagnostic value of biochemical markers (Fibro-Test- FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *BMC Gastroenterol.*— 2006.— Vol. 6.— P. 6.
- Rosenberg W.M., Voelker M., Thiel R. et al. European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver

- fibrosis: a cohort study // *Gastroenterology*.— 2004.— Vol. 12.— P. 1704—1713.
35. Rossi E., Adams L.A., Bulsara M., Jeffrey G.P. Assessing liver fibrosis with serum marker models // *Clin. Biochem. Rev.*— 2007.— Vol. 28, N 1.— P. 3—10.
 36. Ruffilo G., Fassio E., Alvarez E. et al. Comparison of NAFLD fibrosis score and BARD score in predicting fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease // *J. Hepatol.*— 2011.— Vol. 54.— P. 160—163.
 37. Rygiel K.A., Robertson H., Marshall H.L. et al. Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease // *Lab. Invest.*— 2008.— Vol. 88.— P. 112—123.
 38. Sakugawa H., Nakayoshi T., Kobashigawa K. et al. Clinical usefulness of biochemical markers of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *World J. Gastroenterol.*— 2005.— Vol. 11.— P. 255—259.
 39. Santos V.N., Leite-Mor M.M., Kondo M. et al. Serum laminin, type IV collagen and hyaluronan as fibrosis markers in non-alcoholic fatty liver disease // *Braz. J. Med. Biol. Res.*— 2005.— Vol. 38.— P. 747—753.
 40. Shah A.G., Lydecker A., Murray K. et al. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *Clin Gastroenterol Hepatol.*— 2009.— Vol. 7.— P. 1104—1112.
 41. Shimada M., Kawahara H., Ozaki K. et al. Usefulness of a Combined Evaluation of the Serum Adiponectin Level, HOMA-IR, and Serum Type IV Collagen 7S Level to Predict the Early Stage of Nonalcoholic Steatohepatitis // *Am. J. Gastroenterology*.— 2007.— Vol. 102.— P. 1931—1938.
 42. Sterling R.K., Lissen E., Clumeck N. et al. APRICOT Clinical Investigators. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection // *Hepatology*.— 2006.— Vol. 43.— P. 1317—1325.
 43. Suzuki A., Angulo P., Lump J. et al. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *Liver Int.*— 2005.— Vol. 25.— P. 778—786.
 44. Vallet-Pichard A., Mallet V., Nalpas B. et al. FIB-4: An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest // *Hepatology*.— 2007.— Vol. 46, N 1.— P. 32—36.
 45. West J., Card T.R. Reduced mortality rates following elective percutaneous liver biopsies. // *Gastroenterology*.— 2010.— Vol. 139, N 4.— P. 1230—1237.
 46. Wong V.W., Wong G.L., Chim A.M. et al. Validation of the NAFLD fibrosis score in a Chinese population with low prevalence of advanced fibrosis // *Am. J. Gastroenterol.*— 2008.— Vol. 103.— P. 1682—1688.
 47. Yilmaz Y. Systematic review: caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18—the promises and challenges of a biomarker for chronic liver disease // *Aliment. Pharmacol. Ther.*— 2009.— Vol. 30.— P. 1103—1109.
 48. Yilmaz Y., Yonal O., Kurt R. et al. Serum fetuin A/ α 2HS-glycoprotein levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease: relation with liver fibrosis // *Ann. Clin. Biochem.*— 2010.— Vol. 47.— P. 549—553.
 49. Yoneda M., Mawatari H., Fujita K. et al. Type IV collagen 7S domain is an independent clinical marker of the severity of fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis before the cirrhotic stage // *J. Gastroenterol.*— 2007.— Vol. 42.— P. 375—381.
 50. Zobaiz M., Younossi Jarar M., Nugent C. Panel for obesity-related steatohepatitis (NASH) // *Obes. Surg.*— 2008.— Vol. 18.— P. 1430—1437.

О.Я. Бабак, Н.О. Кравченко

Сироваткові біомаркери та фібротести в діагностиці фіброзу печінки: недоліки і перспективи

Прогноз і лікування захворювань печінки значною мірою залежать від стадії фіброзу печінки. Важливе значення для пацієнтів з неалкогольною жирною хворобою печінки (НАЖХП) має диференціація неалкогольного стеатогепатиту від простого стеатозу. В огляді проаналізовано методи та гіпотези щодо застосування з цією метою рутинних клінічних та біохімічних параметрів. На відміну від гепатиту С придатними для оцінки стадії фіброзу печінки у пацієнтів з НАЖХП вважають лише невелику кількість сироваткових маркерів — шкали BAAT, NAFLD, ELF, FibroMeters, FibroTest, рівень гіалуронової кислоти та NS-шкалу.

О.Я. Babak, N.A. Kravchenko

Serum biomarkers, fibro-testes in the diagnostics of liver fibrosis: perspectives and shortcomings

The prognosis and treatment of liver disease greatly depends on the stage of liver fibrosis. A key issue in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the differentiation of non-alcoholic steatohepatitis from simple steatosis. The review presents the analysis of methods and hypothesis of routine clinical and biochemical parameters for this purpose. In contradistinction to hepatitis C, only a limited number of serum markers in patients with NAFLD have been evaluated for their ability to assess liver fibrosis. They include the BAAT score, NAFLD score, ELF score, FibroMeters, FibroTest, hyaluronic acid and NSscore.

Контактна інформація

Бабак Олег Якович, д. мед. н., проф.
61039, м. Харків, вул. Постишева, 2а
Тел. (57) 370-20-24. E-mail: info@therapy.gov.ua

Стаття надійшла до редакції 6 квітня 2012 р.