

УДК: 616.36 – 002.17 – 039 – 071

Дербак М. А.**АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ФІБРОГЕНЕЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С****ДВНЗ «Ужгородський національний університет» (м. Ужгород)****morika1415@gmail.com**

Дане дослідження є фрагментом планової НДР кафедр пропедевтики внутрішніх хвороб (зав. кафедрою – проф. Архій Е.Й.) та хірургічних хвороб (зав. кафедрою – проф. Болдіжар П.О.) медичного факультету Ужгородського національного університету «Механізми оптимізації діагностики та лікування захворювань гепатопанкреатобіліарної зони залежно від впливу екзо- та ендоекологічних факторів довкілля», № державної реєстрації 0113U002361.

Вступ. Клінічний перебіг хронічного гепатиту С (ХГС) значною мірою залежить від швидкості прогресування і ступеня фіброзу. Фіброгенез являє собою необмежений процес, в основі якого є активація зірчастих клітин та фібробластів сполучної тканини з епітеліально-мезенхімальною трансформацією, що ініціюється та підтримується хронічним запальним процесом [5,13] та посилена продукція колагенів та інших компонентів позаклітинного матриксу з подальшим їх надмірним накопиченням, що в результаті призводить до порушення нормальної архітектоники печінки і розвитку цирозу [13]. Важливу роль у регуляції фіброгенезу і фібролізу в печінці при ХГС відіграє родина Zn-залежних ендопептидаз-матриксних металопротеїназ (MMP) та їх тканинних інгібіторів (TIMP) [10], що забезпечують підтримку гомеостазу позаклітинного матриксу печінки і в нормі [11]. Хронічне ушкодження печінки при ХГС провокує збільшення експресії MMP і TIMP активованими зірчастими клітинами [12].

Найбільш інформативним і об'єктивним методом діагностики фіброзу на сьогодні залишається пункційна біопсія печінки (ПБП) [1,2,3], яка вважається «золотим стандартом» [7,10]. ПБП є інвазивною методикою з визначеним відсотком ускладнень, і у деяких пацієнтів її виконати неможливо (кісти, гемангіоми печінки, тромбоцитопенія).

Відомі на сьогодні неінвазивні методи діагностики фіброзу печінки включають непрямую фіброеластометрію (Фіброскан) та серологічні маркери (Фібромакс) [8]. Вплив надмірної ваги пацієнта і стеатозу печінки на показники фіброеластометрії, та недостатня інформативність результатів Фібромаксу при початкових стадіях фіброзу печінки, не дозволяють їх використання без обмежень.

Тому, продовжується пошук неінвазивних, більш безпечних та чутливих методів діагностики, результати яких тісно би королували з даними біопсії печінки [1,4,13]. Актуальними в цьому аспекті є сироваткові маркери – тканинний інгібітор металопротеїнази-1 (TIMPs-1) та трансформуючий фактор росту – $\beta 1$ (TGF- β_1), які є ключовими серед цитокінів фіброгенезу печінки [5]. TGF- β_1 – найбільший міоген для зірчастих клітин, рівень якого може регулювати-

ся у фібротичній печінці, а його інгібування послаблює розвиток експериментального фіброгенезу.

Мета роботи — вивчити рівні цитокінів фіброгенезу печінки – TIMPs-1 та TGF- $\beta 1$ у хворих на ХГС у залежності від ступенів фіброзу та вірусного навантаження.

Об'єкт і методи дослідження. Це проспективне відкрите дослідження проведено в умовах стаціонару. Усі обстеження проведені за згодою хворих, а методика їх відповідала Гельсінській декларації 1975 р. і її перегляду 1983 р. Дослідження схвалене локальною етичною комісією, усі учасники його ознайомилися і підписали погоджувальний лист, структура якого відповідала офіційно прийнятій.

Критерії включення в дослідження: пацієнти із встановленим діагнозом хронічного гепатиту С.

Критерії виключення: вік менше 18 і більше 70 років, інфікування вірусами гепатиту В, D, TTV, первинний біліарний цироз, токсичний гепатит, хронічне зловживання алкоголем, гемосидероз, цироз печінки, автоімунні захворювання, приймання глюкокортикостероїдів і відмова хворого від участі у дослідженні.

З урахуванням зазначених критеріїв, у дослідження включено 177 хворих на ХГС віком від 31 до 70 років ($54,1 \pm 1,1$ року): 95 (53,7%) чоловіків і 82 (46,3%) жінок, що перебували на лікуванні у гастроентерологічному відділенні Закарпатської обласної клінічної лікарні ім. А. Новака, м. Ужгорода. Залежно від скарг усім хворим проведені клініко-лабораторні обстеження згідно протоколів надання медичної допомоги передбачуваного захворювання.

Діагноз ХГС встановлювали згідно з Міжнародною Класифікацією Хвороб 10 перегляду та класифікацією, прийнятою на Міжнародному конгресі гастроентерологів (WCOG, Лос-Анджелес, 1994 р.) та підтверджений виявленням сумарних антитіл класу IgG до структурного (core) та неструктурних білків HCV (anti HCV IgG+) методом імуноферментного аналізу (ELISA), а також виявленням у крові пацієнтів RNA-HCV методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі (RT-PCR) з визначенням вірусного навантаження та генотипуванням. Обладнання на якому проводили тестування – термоциклер з системою детекції продуктів ПЛР у режимі реального часу «iQ 5», BioRad, США.

Для визначення тривалості ХГС проведено ретельний збір та аналіз епідеміологічного анамнезу з урахуванням шляхів і чинників, що сприяють інфікуванню.

Ступінь фіброзу печінки визначали за допомогою неінвазивного методу діагностики – Фібромакс (BioPredictive, Paris). Також проводили не-

пряму фіброеластометрію печінки – діагностичний прилад «FibroScan» 502 F01261 датчик M 7 70129, (Echosens, Франція, обласна клінічна інфекційна лікарня м. Ужгород).

Визначення TIMPs-1 та TGF-β₁ у сироватці крові проводили методом ELISA (тест-системи DRG, США).

У всіх хворих на ХГС було оцінено початкове вірусне навантаження. Хворі були поділені на 1а підгрупу (n=71) – з високим вірусним навантаженням (ВВН) РНК ВГС ≥ 6x10⁵ МО/мл і 1б підгрупу (n=106) – з низьким вірусним навантаженням (НВН) РНК ВГС ≤ 6x10⁵МО/мл відповідно.

Усі отримані результати обстеження реєструвалися в історії хвороби. Статистичну обробку виконували в середовищі пакета SPSS 11.5. Значення p<0,05 вважали високо значимими і достовірними.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналізуючи показники непрямой фіброеластометрії у 14 (7,9%) хворих на ХГС фіброзу не виявлено (середній показник еластичності (ПЕ) 5,3±0,58 кПа), у 22 (12,40%) осіб виявлено 1-у стадію фіброзу (середній ПЕ 7,3±0,55 кПа), у 38 (21,5%) – 2-у стадію (середній ПЕ 9,6±0,62 кПа), у 82 (46,3%) – 3-ю стадію (середній ПЕ 12,5±2,4 кПа) і в 21 (11,9%) – 4-у стадію фіброзу за шкалою METAVIR (середній ПЕ 23,7±1,7кПа) (рис. 1).

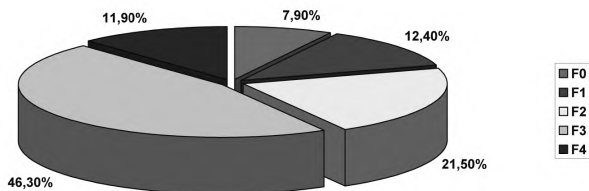


Рис. 1. Результати фіброеластометрії у хворих на ХГС.

Аналізуючи середнє значення ПЕ залежно від тривалості ХГС встановлено, що у хворих з анамнезом захворювання 8-10 років показник був значно вище (p<0,05), ніж у хворих з більш коротким анамнезом, що відповідає вищому ступеню фіброзу печінки (табл. 1).

Таблиця 1.

Показник фіброеластометрії у хворих залежно від тривалості ХГС

Анамнез хвороби	Середнє значення (кПа)
До 10 років	7,6±0,82
Більше 10 років	12,3±1,48
Значення p	p<0,05

При дослідженні рівнів цитокінів фіброгенезу – трансформуючого фактору росту – β1 (TGF-β₁) та тканинного інгібітора металопротеїнази -1 (TIMPs-1) у сироватці крові хворих на ХГС встановлено: підвищений рівень TGF-β₁ у 141 (79,7 %) хворого, знижений – у 15 (8,5 %) і відповідав показникам норми у 21 (11,9 %) хворих. Рівень TIMPs-1 – був підвищеним у 130 (73,4 %) хворих, зниженим у 12 (6,8 %) і відповідав показникам групи контролю у 35 (19,8 %) осіб.

Середні значення TIMPs-1 і TGF-β₁ були достовірно підвищені у всіх хворих (p<0,05 – 0,01) у порівнянні із значенням контрольної групи (таблиця 2).

Таблиця 2.

Показник фіброеластометрії у хворих залежно від тривалості ХГС

Анамнез хвороби	Середнє значення (кПа)
До 10 років	7,6±0,82
Більше 10 років	12,3±1,48
Значення p	p<0,05

При вивченні можливих взаємозв'язків між рівнями цитокінів фіброгенезу та вірусним навантаженням встановлено, що рівень TGF-β₁ і TIMPs-1 у хворих з високим вірусним навантаженням (ВВН) є достовірно вищим (p<0,05) у порівнянні з відповідним показником при низькому вірусному навантаженні (НВН) (рис. 2).

Порівнюючи рівні цитокінів та ступені фіброзу печінки за даними фіброеластометрії у хворих на ХГС встановлено статистично достовірний зв'язок (p<0,01) між сироватковими рівнями TGF-β₁ і TIMPs-1 та ступенем фіброзу печінки F₂ і вище (r=0,78 і r=0,71) (табл. 3).

Також, при вивченні залежності між рівнями цитокінів у сироватці крові та концентрацією цитолітичних ферментів нами встановлено статистично значимий кореляційний взаємозв'язок між концентрацією TGF-β₁ і TIMPs-1, з одного боку, і рівнем АлАТ/АсАТ, з іншого (r=0,61, r=0,58, p<0,01 і r=0,68, r=0,62, p<0,01, відповідно).

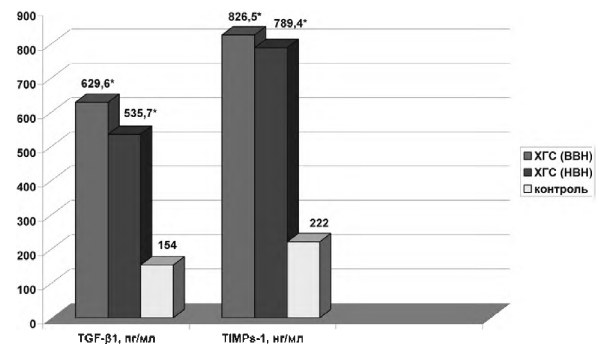


Рис. 2. Сироваткові показники цитокінів фіброгенезу у хворих на ХГС залежно від вірусного навантаження. Достовірність різниці: * – значення TGF-β₁ і TIMPs-1 у порівнянні із групою контролю (p<0,05).

Підвищені рівні вмісту TGF-β₁ і TIMPs-1 у сироватці крові у хворих на ХГС у порівнянні з відповідними значеннями контрольної групи свідчать про участь даних цитокінів у патогенезі захворювання. Отримані результати показують, що визначення рівнів цитокінів може бути використано для диференційної діагностики високих ступенів фіброзу печінки у якості додаткового тесту для підтвердження діагнозу.

Висновки

1. У хворих на ХГС сироваткові рівні TGF-β₁ та TIMPs-1 є достовірно вищими при високому вірусному навантаженні, ніж при низькому.

2. Встановлено статистично достовірний зв'язок ($p < 0,01$) між сироватковими рівнями TGF- β_1 і TIMPs-1 та фібрози печінки F₂ і вище.

Перспективою подальших досліджень є вивчення специфічності та чутливості показників неінвазивної діагностики фіброзу печінки та можливості їх поєднання у якості моніторингу ефективності лікування хворих на ХГС.

Результати дослідження паренхіми печінки у хворих на ХГС

Вид дослідження	Здорові особи (n=20)	Стадії фіброзу печінки				
		F ₀	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
Фібро-еластометрія, кПа	4,7±0,3	5,3±0,5	7,3±0,5	9,6±0,6*	12,5±2,4*	23,7±1,7*
TGF- β_1 , пг/мл	154,0±	166,9±	234,3±	529,8±	647,5±	736,9±
TIMPs-1, нг/мл	222,0±7,3	246,2±	337,9±	678,6±	736,9±	885,9±

Примітка. * – значення ступеню фіброзу у порівнянні із групою контролю ($p < 0,05$).

Література

- Babak O.Ja. Sivorotochnije biomarkeru i fibrotestu v diagnostike fibroza pecheni: nedostatki i perspektivu / O.Ja. Babak, N.A. Kravchenko // Suchasna gastroenterolognuja. – 2012. – Vol. 3 (65). – S. 71-80.
- Voprosi diagnostiki nealkogol'noj zhirovoj bolezni pecheni v podrostkovom vozraste / L.K. Parchomenko, L.A. Strashok, A.V. Jechenko [i dr.] // Zdorovje rebjenka. – 2011. – Vol. 7 (34). – S. 107-112.
- Nealkogol'naja zhirovaja bolezni pecheni: klinika, dagnostika i lechenye / S.N. Makhtijev, V.B. Hrinevich, Ju.A. Kravchuk [i dr.] // Lechaschij vrach. – 2008. – Vol. 2. – S. 19-22.
- Pirogova I.Ju. Diagnostika fibrosa pecheni: invasivni i neinvazivni metodu diagnostiki / I.Ju. Pirogova, S.A. Pyshkin // Syb. Med. J. – 2011. – Vol. 3. – S. 10-15.
- Axel Gressner M. Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver: A short survey / M. Axel Gressner, Chun-Fang Gao, O. Gressner // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15 (20). – P. 2433-2440.
- Bataller R. Liver fibrosis / R. Bataller, D.A. Brenner // Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 209-218.
- Bravo A.A. Liver biopsy / A.A. Bravo, S.G. Sheth, S. Chopra // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 344. – P. 495-500.
- Castera L. Transient elastography and other noninvasive tests to assess hepatic fibrosis in patients with viral hepatitis / L. Castera // J. Viral. Hepat. – 2009. – Vol. 16. – P. 300-314.
- Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C / D.B. Strader, T. Wright, D.L. Thomas [et al.] // Hepatology. – 2004. – Vol. 39. – P. 1147-1171.
- Differential expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in thioacetamide-induced chronic liver injury / S.Y. Park, H.W. Shin, K.B. Lee [et al.] // J. Korean Med Sci. – 2010. – Vol. 25. – P. 570-576.
- Hepatocyte production of modulators of extracellular liver matrix in normal and cirrhotic rat liver / Leyn M. Garchade, I. Montfort, E. Tello Montes [et al.] // Exp and Mol Path. – 2006. – Vol. 80 (1). – P. 97-108.
- Matrix Metalloproteases (MMPs) In Chronic Hepatitis C Infection [Електронний ресурс] // Conatus Pharmaceuticals. – 2009. – Режим доступу: <http://www.conatuspharma.com/liverfacts/chronic-hcv.htm>.
- 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.

УДК: 616.36 – 002.17 – 039 – 071

АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ФІБРОГЕНЕЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

Дербак М. А.

Резюме. Робота присвячена вивченню сироваткових маркерів фіброзу печінки – трансформуючого фактора росту – β_1 (TGF- β_1) і тканинного інгібітора металопротеїнази-1 (TIMP-1), та фіброеластометрії для встановлення ступеня фіброзу у хворих на хронічний гепатит С. Аналізуючи рівні цитокінів фіброгенезу та показники фіброеластометрії у 177 хворих на ХГС встановлено статистично достовірний зв'язок ($p < 0,01$) між цими показниками при фіброзі печінки F₂ і вище. Виявлено, що сироваткові рівні TGF- β_1 та TIMPs-1 є достовірно вищими у хворих на ХГС з високим вірусним навантаженням, ніж з низьким. Отже, показники TGF- β_1 і TIMPs-1 можуть бути використані для диференційної діагностики високих ступенів фіброзу печінки у якості додаткового тесту для підтвердження діагнозу.

Ключові слова: хронічний гепатит С, трансформуючий фактор росту – β_1 , тканинний інгібітор металопротеїнази-1, фіброз печінки.

УДК: 616.36 – 002.17 – 039 – 071

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИБРОГЕНЕЗА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Дербак М. А.

Резюме. Работа посвящена изучению сывороточных маркеров фиброза печени – трансформирующего фактора роста – β_1 (TGF- β_1) и тканевого ингибитора металопротеиназы-1 (TIMP-1), а также фиброэластометрии для установления степени фиброза у больных хроническим гепатитом С. Анализируя уровни цитокинов фиброгенеза TGF- β_1 и TIMP-1, и показатели фиброэластометрии у 177 больных ХГС, установлено статистически достоверную связь ($p < 0,01$) между этими показателями при фиброзе

печени F₂ и выше. Выявлено, что сывороточные уровни TGF-β1 и TIMPs-1 достоверно выше у больных ХГС с высокой вирусной нагрузкой, чем с низкой. Итак, показатели TGF-β1 и TIMPs-1 могут быть использованы для дифференциальной диагностики высоких степеней фиброза печени в качестве дополнительного теста для подтверждения диагноза.

Ключевые слова: хронический гепатит С, трансформирующий фактор роста – β1, тканевой ингибитор металлопротеиназы - 1, фиброз печени.

UDC: 616.36 – 002.17 – 039 – 071

ANALYSIS OF FIBROGENESIS INDICATORS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

Derbak M. A.

Abstract. The clinical course of chronic hepatitis C (CHC) largely depends on the progression rate and fibrosis degree. The serum markers – tissue inhibitor metalloproteinase-1 (TIMPs-1) and transforming growth factor – β1 (TGF-β1), which are considered the key markers among cytokines of liver fibrogenesis, are relevant in this aspect.

The aim of research was to study the levels of cytokines of liver fibrogenesis TIMPs-1 and TGF-β1 in patients with CHC depending on the degree of fibrosis and viral load.

Object and methods of research. The study included 177 patients with CHC aged from 31 to 70 years (54.1±1.1): 95 (53.7 %) men and 82 (46.3 %) women who were treated in the gastroenterological department of Transcarpathian Regional Clinical Hospital named after A. Novak, Uzhgorod. Depending on the complaints, all patients underwent clinical and laboratory examinations according to protocols of medical care of probable disease. The degree of liver fibrosis was determined using a non-invasive method of diagnostics – FibroMax (Bio-Predictive, Paris) and indirect transient elastometry of the liver (“FibroScan” 502 F01261, France).

Evaluation of TIMPs-1 and TGF-β1 in the blood serum was carried out by ELISA method (test-systems DRG, USA).

The initial viral load was evaluated in all CHC patients. Patients were distributed into 1a subgroup (n=71) with the high viral load (HVL) HCV RNA ≥ 6x10⁵ IU/ml, respectively.

Results and discussion. According to indirect transient elastometry in 14 (7,9%) CHC patients fibrosis was not revealed, in 22 (12.40%) the first stage was identified, in 38 (21.5%) – the second stage, in 82 (46.3 %) – the third stage and in 21 (11.9%) – the fourth stage of fibrosis according to METAVIR scale.

While examining the levels of TGF-β1 and TIMPs-1 in patients with CHC it was determined that the level of TGF-β1 was elevated in 141 (79.7 %) of patients, reduced in 15 (8.5 %) and that corresponded to the normal values in 21 (11.9 %) of patients. The level TIMPs-1 was elevated in 130 (73.4 %) of patients, decreased in 12 (6.8 %) and that corresponded to indicators of control group in 35 (19.8 %). When studying the possible correlations between the levels of fibrogenesis cytokines and viral load it was determined that the level TGF-β1 and TIMPs-1 in CHC patients with high viral load was significantly higher (p<0.05) in comparison with the corresponding indicator at low viral load. Comparing the levels of cytokines and degrees of liver fibrosis according to indirect transient elastometry data it was stated the statistically significant correlation (p<0.01) between TGF-β1 and TIMPs-1 levels and the degree of liver fibrosis (r=0.78 and r=0.71) in CHC patients when liver fibrosis was F2 and higher.

When examining relations between cytokines levels and concentration of cytolytic enzymes, the correlation between TGF-β1 and TIMPs-1 concentration, on the one hand, and AST/ALT ratio, on the other (r=0.61, r=0.58, p<0.01 and r=0.68, r=0.62, p<0.01, correspondingly) was determined.

Conclusions

1. In CHC patients the serum levels TGF-β1 and TIMPs-1 are significantly higher in case of the higher viral load than in low one.

2. Statistically significant correlation (p<0.01) between the serum levels TGF-β1 and TIMPs-1 and liver fibrosis F2 and higher was determined.

Keywords: chronic hepatitis C, transforming growth factor – β1, tissue inhibitor of metalloproteinase - 1, liver fibrosis.

Рецензент – проф. Дубинська Г. М.

Стаття надійшла 22.05.2017 року