

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФИБРОГЕНЕЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

PATHOGENETIC FEATURES OF FIBROGENESIS IN CHRONIC LIVER DISEASES

**Z. Nadirova
A. Dalgatova
V. Gorelova
E. Ibragimova
G. Dalgatova**

Summary. This article describes methods that allow conducting multiple studies to assess the dynamics of the pathological process, including during therapy, and can also be used as screening tests in patients from risk groups. The dynamics of fibrotic changes during treatment is also assessed, it is recommended after performing a liver biopsy before starting the course of therapy or in combination with other non-invasive tests.

Keywords: fibrous septa, chronic hepatitis, fibrogenic mediators, hepatocytes, fibronectin, fibrogenesis.

Надирова Зайнаб Абулмуслимовна

К.м.н., доцент, ФБГОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ
zaynab_nadirova@mail.ru

Далгатова Асера Арабхановна

К.м.н., ассистент, ФБГОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ
d.asera.a@mail.ru

Горелова Виктория Геннадьевна

К.м.н., доцент, ФБГОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ
dgma@list.ru

Ибрагимова Эльмира Ибрагимовна

К.м.н., ассистент, ФБГОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ
ibragim85@mail.ru

Далгатова Гюзель Арабхановна

К.м.н., ассистент, ФБГОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ
d.guzel.a@mail.ru

Аннотация. В данной статье описываются методы, которые позволяют проводить многократные исследования для оценки динамики патологического процесса, в том числе и на фоне терапии, а также могут использоваться в качестве скрининг — тестов у пациентов из групп риска. Также оценивается динамика фиброзных изменений на фоне лечения рекомендовано после выполнения биопсии печени до начала курса терапии или в комплексе с другими неинвазивными тестами.

Ключевые слова: фиброзные септы, хронический гепатит, фиброгенные медиаторы, гепатоциты, фибронектин, фиброгенез.

Фиброз печени (ФП) — результат длительного ее повреждения, сопровождаемого диспозицией белков ВКМ, итог прогрессирования хронических заболеваний печени (ХЗП). Нарушение печеночной архитектоники с формированием фиброзных септ, узлов регенерации приводит, в конечном счете, к ЦП и нарушению печеночной функции [1].

Данное определение подразумевает, что ЦП — явление необратимое. Однако имеется достаточно до-

казательств обратимости этого процесса. Основными причинами ФП у лиц, проживающих в индустриально развитых странах, являются хронический гепатит С (ХГ С), хронический гепатит В (ХГ В), злоупотребление алкоголем и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

На ранних стадиях ФП практически никаких явных клинических проявлений этого патологического процесса не отмечается и лишь морфологическое исследование биоптата позволяет обнаружить признаки на-

чинающихся структурных изменений, выражающихся в чрезмерном накоплении ВКМ. Молекулярный состав измененной соединительной ткани при ЦП примерно одинаков, независимо от этиологии процесса. Он считается результатом чрезмерного накопления ВКМ. Естественное развитие хронического повреждения печени — прогрессирование фиброза, в конечном итоге приводящее к циррозу и гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК). Гепатоциты являются мишенями для большинства повреждающих агентов, включающих вирусы гепатита, метаболиты алкоголя, токсичные желчные кислоты и др. Повреждение гепатоцитов сопровождается высвобождением радикалов кислорода, фиброгенных медиаторов и активацией воспалительных клеток [2].

Среди факторов необратимого повреждения ткани печени выделяют местные и системные механизмы. В печени определенную роль играют следующие процессы:

- ◆ массовая гибель (некроз) гепатоцитов, которая нарушает, вызывая стрессорную (повреждающую) активацию синусоидальных клеток (СК), и прежде всего клеток Ито. В результате клетки Ито утрачивают пластические и регуляторные функции стволовых клеток и превращаются в зрелые фибробласты, которые не способны регулировать межклеточные взаимодействия и структуру ВКМ, вызывая дисбаланс функций клеток печени (потеря микроворсинок на гепатоцитах, капилляризация синусоидов, нарушение растормаживания митотических потенциалов гепатоцитов);
- ◆ преобладание процессов синтеза фибриллярных матриксных коллагенов и относительная недостаточность синтеза (активности) матриксных протеиназ (коллагеназ) ведет к формированию фиброзной ткани, которое начинается в пространстве Диссе. В результате имеет место отложение коллагена 1, 3, 5-го типов и фибронектина, которые создают препятствия для нормального обмена веществ между кровью синусоидов, гепатоцитов и СК [3].
- ◆ развитие дискоординации биорегуляторных ритмов активности гепатоцитов и СК вследствие снижения массы гепатоцитов до критического уровня. В результате резко возрастает функциональная нагрузка на эти клетки и, соответственно, снижается и десинхронизируется их митотическая активность, а также возрастает апоптоз сохранившихся гепатоцитов.

Многочисленные повреждающие агенты, являясь триггерами фиброгенеза, запускают процесс образования фибриллярных структур или чрезмерного синтеза

и накопления ВКМ. Молекулярный состав измененной соединительной ткани при ФП примерно одинаков, независимо от этиологии процесса.

Длительная персистенция активных клеток Ито приводит к аккумуляции протеинов ВКМ и прогрессированию фиброза. Молекулы ВКМ объединяются в большие молекулярные образования: коллагены, неколлагеновые гликопротеиды, глюкозаминогликаны, протеогликаны и эластин. Накопление коллагена — важный этап развития ФП, так как он является основным компонентом, формирующим механический каркас органа [5].

Из 20 различных типов коллагена, имеющих определенную функцию и специфическую локализацию, более 10 найдено в печени. За формирование фибрилл отвечают коллагены I, III и IV типов, формирующие базальную мембрану клеток. После повреждения печени большое значение приобретают ранние изменения матрикса в пространстве Диссе, который из базального мембраноподобного матрикса начинает преобразовываться в интерстициальный матрикс, состоящий преимущественно из коллагена III и IV типов, входящего в состав фибрилл и фибронектина [6].

Подобное изменение состава ВКМ в конечном итоге может напрямую стимулировать фиброгенез. Коллаген IV типа, фибриноген и урокиназный тип активатора плазминогена активируют ЗК путем стимуляции латентных цитокинов, таких как TGF-β1.

Фибриллярные коллагены могут связывать и стимулировать ЗК посредством дискоидинового домена рецептора DDR2 и интегринов. Более того, измененный ВКМ может служить «резервуаром» для факторов роста (ФР) и ММП [215].

В результате избыточного синтеза компонентов ВКМ синусоиды превращаются в капилляры, исчезают фенестры эндотелия. В итоге нарушается обмен веществ между гепатоцитами и кровью. Стенозирование синусоидов повышает сосудистое сопротивление в печени и способствует формированию портальной гипертензии (ПГ) [7].

Прогрессирование фиброза нарушает архитектуру печени и обуславливает развитие ЦП и ПГ.

К тому же длительная стимуляция эпителиальной пролиферации в аномальной среде ВКМ (регенеративные узелки) предрасполагает к развитию ГЦК [6].

В процессе хронического воспаления увеличивается количество рецепторов к цитокинам, стимулирующих пролиферацию и фиброгенез. Активированные

ЗК секретируют воспалительные хемокины, экспрессируют адгезивные молекулы и модулируют активацию лимфоцитов, особенно Т-хелперных клеток. Таким образом, создается замкнутый круг из иммунных клеток и клеток Ито, которые взаимно активируют друг друга. Радикалы кислорода и протеазы усиливают клеточное повреждение.

Любое повреждение гепатоцитов сопровождается высвобождением свободных радикалов и фиброгенных медиаторов, в том числе и цитокинов, вовлечением лейкоцитов в воспалительный процесс [6].

Кроме того, фиброгенную активность миофибробластов печени стимулирует апоптоз поврежденных гепатоцитов. Воспалительные клетки (лимфоциты, нормальные киллеры, полиморфно-ядерные клетки) активируют клетки Ито, синтезирующие коллаген. Они являются ключевыми в фиброгенезе печени.

Процесс регуляции ФП изучен недостаточно. Большинство результатов получено при исследовании на культуре ЗК. В то же время понимание их роли *in vivo* осуществляется при изучении экспериментального фиброгенеза на лабораторных линиях мышей [7].

Гены, регулирующие

Полиморфизм генов объясняет разное течение ФП при хронических заболеваниях печени. Однако результаты исследований данной проблемы крайне противоречивы и требуют дальнейшего изучения [85]. Многочисленные исследования, посвященные проблеме ФП, позволили определить ключевые гены, инициирующие фиброгенез [7].

Гены, регулирующие синтез воспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, IFN- γ , остеоопонтин), определяют развитие ФП в ответ на воспаление. Гены, кодирующие никотинамидадениндинуклеотидфосфат-Н-оксидазу (НАДФ-Н-оксидаза), регулируют как воспаление, так и депозицию ВКМ.

Данные ферментные системы сохраняют постоянную активность, продуцируя относительно низкие уровни свободнорадикальных веществ по отношению к базальным уровням и генерируют более высокие уровни перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ответ на действие цитокинов. Регуляция синтеза фиброгенных факторов (TGF, FGF и др.), вазоактивных субстанций (ангиотензин-2, норэпинефрин) и адипокинов (лептин и адипонектин) способствует образованию компонентов ВКМ. Гены апоптоза клеток печени и (или) некроза (Bcl-xL, Fas-лиганды) влияют на степень повреждения гепатоцитов и последующий фиброзный ответ.

Кроме того, открыты специфические гены для каждого заболевания. Варибельность генов, кодирующих воспалительные медиаторы (TNF- α , ИЛ-1 β , ИЛ-10, цитотоксичный Т-лимфоцитарный антиген-4, рецептор CD14, супероксиддисмутаза), может способствовать прогрессированию алкогольной болезни печени, тогда как роль в фиброгенезе печени полиморфизма генов цитохрома P-450, алкоголь — и альдегиддегидрогеназы, определяющих индивидуальную чувствительность к алкоголю, сомнительна.

Различные варианты ХГ С отвечают за персистенцию, противовирусный ответ, фиброгенные агонисты (ангиотензиноген, TGF- β 1), способствуют прогрессированию фиброза. Возможно, что ангиотензиноген и TGF- β 1 могут быть ассоциированы со степенью выраженности стеатоза.

«Золотым стандартом» оценки выраженности ФП остается биопсия печени. Однако в среднем лишь 5% пациентам с риском развития фиброза проводят биопсию печени. Гистологическое исследование в ряде случаев позволяет уточнить причину заболевания печени, а также оценить степень активности. Наиболее распространенными и общепринятыми являются полуколичественные способы оценки выраженности ФП по шкале METAVIR или K.G. Ishak и соавт. [9]. Для морфометрического анализа могут использоваться специфические окраски, направленные на выявление компонентов ВКМ. К основным недостаткам биопсии печени относится инвазивный характер исследования, при котором боль наблюдается в 25% случаев, а у 0,5% больных — более серьезные осложнения. Их развитие нередко связано с опытом врача, выполняющего биопсию. Возможны ошибки при интерпретации гистологической картины различными исследователями или при повторном исследовании тем же специалистом. А также имеется масса несовершенств в имеющихся системах полуколичественной оценки стадии фиброза. Отмечается значительное различие показателей в различных образцах (до 40%), высокая внутри — и межпатологическая варибельность [4].

Существует ряд противопоказаний к проведению биопсии печени: коагулопатии; повышенное давление в желчных путях; аллергические реакции на обезболивающие препараты; негативный настрой и страх пациента; нежелательность наркоза для бывших потребителей психоактивных веществ; отягощенность другими заболеваниями, особенно в пожилом возрасте.

Кроме того, высокая стоимость и нежелание больных подвергаться инвазивным процедурам обуславливают необходимость разработки неинвазивных методов диагностики фиброза печени.

Учитывая необходимость в простом неинвазивном и воспроизводимом методе оценки ФП, современный этап развития клинической гепатологии характеризуется постепенным отходом от традиционно принятого, служившего в течение веков основным путем накопления врачебных знаний, морфологического метода исследования. Этому способствуют три обстоятельства: бурное развитие методов визуализации, позволяющих получить детальную картину структуры органа; высокая стоимость биопсии и морфологического исследования ткани печени в западных странах; пассивная позиция гепатологов, не владеющих методикой забора ткани печени и не умеющих трактовать результаты морфологического исследования. Основной аргумент — инвазивность биопсии — часто служит поводом для необоснованного отказа от проведения морфологического исследования, результаты которого в сложных клинических ситуациях становятся определяющими в подтверждении диагноза и определении стратегии терапии хронического заболевания печени. Аналогичный подход в европейских странах, в частности во Франции, послужил стимулом для поиска и разработки неинвазивных методов (эластометрия — изучение эластических свойств ткани печени; сывороточные тесты — определение компонентов экстрацеллюлярного матрикса, принимающих участие в процессе фиброгенеза, в сыворотке крови), диагностики фиброза печени у больных хроническими гепатитами, значительно сузив при этом спектр показаний к биопсии печени.

Предложено несколько способов оценки выраженности ФП на основании рутинных лабораторных тестов, включающих показатели активности аминотрансфераз и белков острой фазы воспаления в сыворотке крови, количества тромбоцитов, протромбинового времени.

Содержание в сыворотке белков, непосредственно связанных с фиброгенезом в печени, таких как N-концевой пропептид коллагена III типа, а также гиалуроновую кислоту, тканевой ингибитор металлопротеиназ 1 типа также пытаются использовать в качестве суррогатных маркеров ФП [3]. Эти подходы к оценке ФП обладают высокой специфичностью при крайних степенях выраженности фиброза: ЦП или минимальных изменений в печени, но недостаточно специфичны для разграничения промежуточных вариантов.

Специфичные для фиброза белки могут отражать фиброгенез в других органах (например, фиброз поджелудочной железы у больных с хронической алкогольной интоксикацией). В стадии разработки находятся методы неинвазивной диагностики фиброза, основанные на протеомике и гликомике сывороточных белков, с использованием анализаторов последова-

тельностей/фрагментов ДНК, способных генерировать профили N-протеингликанов сыворотки крови.

Наконец, ФП пытаются оценить при помощи лучевых, т.е. визуальных методов диагностики. Ультразвуковое исследование, компьютерная и магнитно-резонансная томографии позволяют выявлять изменения паренхимы печени, обусловленные значительным и тяжелым фиброзом. Ультразвуковое исследование позволяет выявлять продвинутые стадии ЦП на основании обнаружения неровного контура печени, признаков портальной гипертензии [6]. Оценка данных ультразвукового исследования в значительной степени зависит от профессионализма врача, проводящего данную манипуляцию. Кроме того, повышенная экзогенность печени может наблюдаться не только при выраженном фиброзе, но и при значительном стеатозе печени.

Наконец, обнадеживает внедрение в клиническую практику кратковременной эластографии печени («Фиброскан») [6].

В то же время необходимо помнить, что клиническое применение неинвазивной диагностики фиброза (эластометрии и сывороточных тестов) стало возможным после сравнительного анализа получаемых данных с результатами морфологического исследования ткани печени.

Вышеперечисленные обстоятельства объясняли назревшую необходимость в разработке и внедрении в практику точных, информативных и неинвазивных методов диагностики фиброза печени на любой стадии процесса. Требовались методы, которые позволили бы проводить многократные исследования для оценки динамики патологического процесса, в том числе и на фоне терапии, а также могли бы использоваться в качестве скрининг — тестов у пациентов из групп риска.

Одним из таких высокотехнологичных неинвазивных методов оценки степени фиброза печени является фиброэластометрия — определение фиброза с помощью упругих волн. Исследование проводится на аппарате «Фиброскан» (Echosens, Франция; рис 1). Фиброскан был изобретен и сконструирован во Франции в начале 2000-х. В серийное производство поступил в 2003 году, а в России прошел государственную регистрацию в конце 2006 года. Теоретической предпосылкой для разработки эластометрии послужил клинический опыт расшифровки уплотнения печени при пальпации в пользу выраженного ФП или ЦП. Выделяют 4 этапа в совершенствовании эластографической техники:

- 1 — статическая эластография;
- 2 — динамическая эластография;



Рис. 1. Аппарат «Фиброскан»

3 — дистанционная эластография;
4 — кратковременная эластография (транзиторная), наиболее приемлемая для оценки выраженности ФП.

Рабочая часть аппарата представлена ультразвуковым преобразовательным датчиком, в который установлен источник колебаний средней амплитуды и низкой частоты. Генерируемые им колебания передаются на исследуемые подлежащие ткани печени и создают упругие волны, подвергающие модуляции отраженный ультразвук. Скорость распространения упругих волн определяется эластичностью печеночной ткани, которая в свою очередь зависит от содержания в печени фиброзной ткани. Полученный результат выражается в килопаскалях (кПа) и позволяет четко распределять больных по стадиям заболевания от F0 (отсутствие фиброза) до F4 (цирроз печени) по шкале METAVIR.

Многочисленные исследования подтвердили достаточно высокую степень соответствия стадии фиброза,

полученную в результате фиброэластометрии и данным системы полуколичественной оценки фиброза по METAVIR на основании морфологических изменений в биоптатах (табл. 2) при максимальной диагностической точности эластометрии при стадиях F3-F4 [3]. Кроме того, показана отличная прогностическая ценность фиброэластометрии, высокая чувствительность и специфичность метода [43].

Суммарный объем подвергающейся исследованию печеночной ткани составляет в среднем 6 см³, что многократно превышает таковой при пункционной биопсии и позволяет судить о состоянии печени в целом, а не отдельного её фрагмента.

Преимущества метода заключаются в следующем: метод безопасен; нетравматичен; используется в педиатрии; проводится без предварительного обследования и подготовки пациента; не требует госпитализации; экономически доступнее, чем процедура биопсии; по-

зволяет осуществлять диагностику цирроза на ранних стадиях; не требует наличия в медицинском учреждении опытного морфолога; может повторяться пациенту неоднократно, что актуально при диспансерном наблюдении и контроле эффективности лечения.

Процедура безболезненна и занимает несколько минут. Результаты отображаются на мониторе и заносятся в электронную базу данных пациентов. Специаль-

ной подготовки к процедуре не требуется. Исследование производится в положении пациента лежа на спине с максимальным отведением правой руки. Никаких неприятных ощущений исследование не вызывает.

В Дагестане впервые на Северном Кавказе с февраля 2010 г. на базе медицинского центра «Гепар» г. Махачкала успешно внедрена в практику фиброэластометрия с использованием аппарата «Фиброскан».

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В.Т., Воликовский Л.Я., Тесаева Е.В. Первый российский опыт неинвазивной диагностики фиброза печени с помощью аппарата «Фиброскан» // Российский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. 2006. № 6. С. 65–69.
2. Калашникова М.М. Ультраструктурная характеристика процесса резорбции коллагена в цирротически измененной печени // Бюллетень экспериментальной биологии. 2000. Т. 129, № 1. С. 4–11.
3. Морозов С.В., Труфанова Ю.М., Павлова Т.В. и др. Применение эластографии для определения выраженности фиброза печени: результаты регистрационного исследования в России // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2008. № 2. С. 40–47.
4. Павлов, Ч.С. Фиброз печени при хронических вирусных гепатитах В и С: дис. . . д-ра мед. наук. М., 2009. 252 с.
5. Павлов Ч.С., Глушенков Д.В., Ивашкин В.Т. Современные возможности эластометрии, фибро- и акти-теста в диагностике фиброза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2008. Т. XVIII, № 4. С. 43–52.
6. Глушенков Д.В., Коновалова О.Н., Ивашкин В.Т. и др. Неинвазивная диагностика фиброза печени на ранних стадиях его развития // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. (Приложение № 32). 2008. Т. 18, № 5. С. 83.
7. Глушенков Д.В., Павлов Ч.С., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. и др. Возможности эластометрии и фибротеста в диагностике цирроза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. (Приложение № 31). 2008. Т. 18, № 1. С. 9.
8. Afdhal N.H., Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review // Am.J. Gastroenterol. 2004. V. 99. P. 1160–1174.
9. Desmet V.J. Milestones in liver disease. Scoring chronic hepatitis // J. Hepatol. 2003. V. 38. P. 382–386.

© Надирова Зайнаб Абулмуслимовна (zaynab_nadirova@mail.ru), Далгатова Асера Арабхановна (d.asera.a@mail.ru), Горелова Виктория Геннадьевна (dgma@list.ru), Ибрагимова Эльмира Ибрагимовна (ibragim85@mail.ru), Далгатова Гюзель Арабхановна (d.guzel.a@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»