

УДК 616.36-002.2-036.12+616.36-004]-07

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ, КОЭФФИЦИЕНТА ДЕ РИТИСА И ВАСКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА И ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

А. П. Щёктова¹, И. А. Булатова¹, А. П. Ройтман²

¹Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь,

²Российская медицинская академия последиplomного образования Минздрава России, г. Москва, Россия

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF HYALURONIC ACID, DE RITIS COEFFICIENT AND VASCULOENDOTHELIAL GROWTH FACTOR DETERMINATION FOR DIAGNOSIS OF CHRONIC HEPATITIS AND HEPATIC CIRRHOSIS

A. P. Schekotova¹, I. A. Bulatova¹, A. P. Roitman²

¹Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner, Perm,

²Russian Academy of Medicine of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

Цель. Сравнить возможности использования для диагностики фиброза печени определения в крови гиалуриновой кислоты (ГК), коэффициента де Ритиса и васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) при хроническом гепатите и циррозе печени.

Материалы и методы. У 100 больных хроническим гепатитом С и у 50 пациентов с циррозом печени в исходе гепатита С определяли в сыворотке крови ГК, соотношение аспарагиновая трансаминаза/аланиновая трансаминаза (АСТ/АЛТ), ВЭФР. Группа контроля состояла из 34 человек.

Результаты. При проведении корреляционного анализа выявлены достоверные взаимосвязи как прямого маркера фиброза – ГК, так и непрямого теста – коэффициента де Ритиса с ВЭФР. Чувствительность определения ГК для диагностики цирроза при концентрации выше 100 нг/мл составляет 100%, специфичность – 80%, отрицательное прогностическое значение для исключения ЦП – 1,0. Соотношение АСТ/АЛТ демонстрирует чувствительность 96% при точке разделения 1,5, специфичность – 69%, отрицательное прогностическое значение – 0,76. Чувствительность теста определения ВЭФР для дифференциальной диагностики цирроза и гепатита при точке разделения 312, 3 пг/мл составляет 90%, специфичность – 80%, эффективность – 84%, отрицательные прогностические значения для исключения ЦП – 0,89.

Выводы. Определение концентрации ВЭФР может использоваться для дифференциальной диагностики цирроза печени и хронического гепатита в качестве непрямого маркера фиброза печени, так как эффективность этого теста несколько уступает ГК и превосходит соотношение АСТ/АЛТ.

© Щёктова А. П., Булатова И. А., Ройтман А. П., 2013

e-mail: al_shchekotova@mail.ru

тел. 8 (342) 219 22 37

[Щёктова А. П. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики; Булатова И. А. – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики; Ройтман А. П. – доктор медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики].

Ключевые слова. Гиалуроновая кислота, коэффициент де Ритиса, васкулоэндотелиальный фактор роста, хронический гепатит, цирроз печени.

Aim. To compare the possibilities of using blood hyaluronic acid (HA), de Ritis coefficient and vasculoendothelial growth factor (VEGF) determination for diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis and hepatic cirrhosis.

Materials and methods. Blood serum HA, aspartic transaminase/ alanine transaminase (AST/ALT) ratio, VEGF were determined in 100 patients with chronic hepatitis C and 50 patients with hepatic cirrhosis at the outcome of hepatitis C. The control group included 34 persons.

Results. While carrying out correlation analysis, reliable correlations between both direct fibrosis marker – HA and indirect test – de Ritis coefficient and VEGF were revealed. The sensitivity of HA determination for diagnosis of cirrhosis with the concentration higher than 100 ng/ml is 100%, specificity – 80%, negative prognostic value for exclusion of HC – 1,0. The AST/ALT ratio demonstrates 96% sensitivity with the point of division 1,5, specificity – 69%, negative prognostic value – 0,76. The test sensitivity of VEGF determination for differential diagnosis of cirrhosis and hepatitis with the point of division 312,3 pg/ml is 90%, specificity – 80%, efficiency – 84%, negative prognostic value for exclusion of HC – 0,89.

Conclusion. Determination of VEGF concentration can be used for differential diagnosis of hepatic cirrhosis and chronic hepatitis as an indirect hepatic fibrosis marker since efficiency of this test somewhat yields to HA and exceeds AST/ALT ratio.

Key words. Hyaluronic acid, de Ritis coefficient, vasculoendothelial growth factor, chronic hepatitis, hepatic cirrhosis.

ВВЕДЕНИЕ

Золотым стандартом диагностики хронических заболеваний печени является биопсия. В то же время этот метод имеет ряд недостатков: вероятность развития осложнений достигает 30%, необходим достаточный опыт получения биоптатов и интерпретации результатов, существенные временные затраты, вариабельность морфологии из разных участков печени [6]. Для диагностики фиброза на фоне хронических диффузных заболеваний печени предложены неинвазивные методы, в том числе эластография, а также прямые и непрямые лабораторные маркеры развития соединительной ткани, но и эти тесты не обладают абсолютной диагностической эффективностью для стратификации стадий фиброза печени и имеют клинические ограничения [4]. Среди прямых лабораторных маркеров для дифференциации фиброза при хроническом гепатите (ХГ) и циррозе печени (ЦП) большой информативностью обладает гиалуроновая кислота (ГК): при концентрации выше 100 нг/мл чувствительность теста составляет

100%, специфичность – 84,6% [2]. Традиционный непрямой маркер фиброза печени – соотношение аспарагиновая трансаминаза/аланиновая трансаминаза (АСТ/АЛТ) более 1 предполагает наличие цирроза, но при алкогольной болезни печени еще до развития ЦП коэффициент де Ритиса выше 1 [5].

Васкулоэндотелиальный фактор роста (ВЭФР), хорошо изученный как активатор неангиогенеза, стимулирует продукцию коллагена звездчатыми клетками печени при воспалении и участвует в патогенезе и прогрессировании хронических диффузных заболеваний печени наряду с таким маркером эндотелиальной дисфункции, как эндотелин-1 [3, 7]. Актуальной задачей остается поиск новых неинвазивных маркеров поражения печени для оценки развития соединительной ткани в органе и сравнение их эффективности с классическими тестами фиброза.

Цель исследования – сравнить возможности использования для диагностики фиброза печени определение в крови ГК, коэффициента де Ритиса и фактора роста сосудистого эндотелия при ХГ и ЦП.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ**

Обследовано 100 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С в фазе реактивации. Вторую группу составили 50 пациентов с ЦП вирусной этиологии в исходе хронического гепатита С (класс В по Child-Pugh). Средний возраст больных ХГ составил $38,8 \pm 14,5$ г., при ЦП – $49,8 \pm 12,2$ г. Контрольная группа состояла из 34 практически здоровых лиц, не имеющих в анамнезе заболеваний печени, возраст – $32,8 \pm 8,3$ г.

Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови проводили определение концентрации ГК с помощью набора BCM Diagnostics (США) и ВЭФР («Вектор-Бест», г. Новосибирск) на аппарате StatFax (США).

Результаты обработаны при помощи пакета программ Statistica 6.0 Microsoft, BIOSTAT. Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с применением *t*-критерия Стьюдента. Для описания полученных количественных признаков, имеющих нормальное распределение, использовалось среднее арифметическое (*M*) ± одно среднее квадратичное стандартное отклонение (σ). Для корреляционного анализа применялся расчет средних величин показателей корреляционных от-

ношений для количественных признаков по Спирмену (*r*). Различия между выборками считались статистически достоверными при значении для $p < 0,05$. С целью оценки операционных характеристик лабораторных тестов и возможности с их помощью дифференцировать ХГ и ЦП были построены кумулятивные кривые, найдены точки разделения показателей у обследованных групп пациентов, определена диагностическая чувствительность, специфичность и эффективность тестов, а также прогностическое значение определения ГК, соотношения АСТ/АЛТ и ВЭФР [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов с ХГ и ЦП в результате исследования выявлено достоверное увеличение показателей фиброза печени и ВЭФР по сравнению с группой контроля (табл. 1). Прямой маркер фиброза печени ГК при ХГ был увеличен в среднем в 4 раза, при ЦП – в 28 раз по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о начале фиброза печени при гепатите и прогрессировании развития соединительной ткани в печени при ЦП [2, 7]. Традиционный непрямой маркер выраженного фиброза – соотношение АСТ/АЛТ было достоверно увеличено только у больных ЦП.

Таблица 1

Маркеры фиброза печени и ВЭФР при ХГ и ЦП

Показатель	Контрольная группа	ХГ (<i>n</i> =100)	ЦП (<i>n</i> =50)	<i>p</i>		
				<i>p</i> ₁	<i>p</i> ₂	<i>p</i> ₃
ГК, нг/мл	17,8±17,0	70,4±52,8	506,5±388,2	0,02	0,007	<0,001
АСТ/АЛТ, ед.	0,8±0,12	0,83±0,4	2,37±1,80	0,1	0,02	<0,001
ВЭФР, пг/мл	158,9±72,8	249,5±94,5	375,0±116,6	0,003	<0,001	<0,001

Примечание: *p*₁ – значимость различий в группах здоровых и больных ХГ; *p*₂ – значимость различий в группах здоровых и больных ЦП, *p*₃ – значимость различий в группах больных ХГ и ЦП.

При патологии печени выявлено повышение концентрации ВЭФР в крови, при этом степень повышения зависит от тяжести поражения печени: максимальная выраженность характерна для больных с ЦП, умеренное увеличение обнаружено при ХГ. Эти

данные свидетельствуют о процессах перестройки сосудистой системы в органе и способствуют прогрессированию хронических диффузных заболеваний печени [6]. Между группами больных по всем изученным тестам получены достоверные различия.

При проведении корреляционного анализа выявлены достоверные взаимосвязи как прямого маркера фиброза – ГК, так и непрямого теста – коэффициента де Ритиса с ВЭФР, что подтверждает роль фактора роста сосуди-

стого эндотелия в стимуляции развития соединительной ткани в печени (табл. 2). Эти результаты свидетельствуют о возможности использования ВЭФР в качестве непрямого маркера фиброза у пациентов с ХГ и ЦП.

Таблица 2

Взаимосвязь маркеров фиброза печени и ВЭФР при ХГ и ЦП

Показатель	ХГ (n=100)		ЦП (n=50)	
	r_1	p_1	r_2	p_2
ГК и АСТ/АЛТ	-0,04	0,8	0,8	0,04
ГК и ВЭФВ	0,5	0,01	0,8	0,02
АСТ/АЛТ и ВЭФР	0,4	0,02	0,9	0,03

Примечание: r_1 – корреляции показателей при ХГ; r_2 – корреляции показателей при ЦП; p_1 – значимость корреляции в группе пациентов с ХГ; p_2 – значимость корреляции в группе пациентов с ЦП.

Проведено сравнение операционных характеристик маркеров фиброза и ВЭФР с целью стратификации ХГ и ЦП. Определена диагностическая чувствительность, то есть способность теста диагностировать ЦП: истинно положительные результаты, характерные для больных ЦП, выраженные в процентах. Диагностическая специфичность, то есть способность теста исключить ЦП, определена по истинно отрицательным результатам для группы пациентов ЦП, выраженным в процентах. Диагностическая эффективность теста представляет собой частное от деления суммы положительных и отрицательных результатов на все результаты, выраженное в процентах, и отражает интегративную способность конкретного маркера дифференцировать гепатит и ЦП [1].

Так как у обследованных нами пациентов не проводилась биопсия печени, а диагноз устанавливали на основании комплекса лабораторных и инструментальных тестов с учетом результатов УЗИ печени, селезенки и сосудов портальной системы, нами оценена диагностическая информативность маркеров фиброза.

Для ГК точка разделения (максимальное расхождение кумулятивных кривых) составила 100 нг/мл, что согласуется с литературными данными [2]. То есть у 100% больных при ЦП уровень ГК был выше 100 нг/мл. Таким образом, диагностическая чувствительность теста, то есть способность теста диагностировать ЦП при концентрации ГК выше 100 нг/мл, составляет 100% (табл. 3).

Таблица 3

Операционные характеристики маркеров фиброза печени и ВЭФР для стратификации ХГ и ЦП

Тест	Точка разделения	Чувствительность, %	Специфичность, %	Эффективность, %	Положительное прогностическое значение	Отрицательное прогностическое значение
ГК, нг/мл	100,0	100	80	88	0,83	1,0
АСТ/АЛТ	1,5	69	96	82	0,95	0,76
ВЭФР, пг/мл	312,3	90	80	84	0,81	0,89

При ХГ у 20% больных ГК была выше 100 нг/мл, что обеспечивает специфичность теста для ЦП на уровне 80%. Это может быть связано с наличием выраженного иммунного воспалительного синдрома при ХГ у ряда больных, что приводит к повышению концентрации ГК. Интегративный показатель эффективности ГК для стратификации ХГ и ЦП достигает 88%. Операционные характеристики для определения ГК представлены на рис. 1.

Исследование концентрации ГК в крови проведено у 50 больных ХГ и 30 пациентов с ЦП. Диагностическая чувствительность теста = 30 (число больных ЦП с концентрацией ГК выше 100 нг/мл):30 (число обследованных пациентов с ЦП)·100%=100%. На рис. 1 можно найти значение при вычитании из 100% по-

казателя «0» (проекция на ось ординат значения точки разделения), то есть 100%–0=100%. Диагностическая специфичность (исключение диагноза ЦП) = 40 (число больных ХГ с концентрацией ГК равной и ниже 100 нг/мл):50 (число обследованных пациентов с ХГ)·100%=80% (верхняя проекция максимального расхождения кумулятивных кривых). Диагностическая эффективность теста (для дифференциальной диагностики гепатита и ЦП)=(30+40):(30+50)·100%=88%. Положительное прогностическое значение теста равно 0,83, а отрицательное прогностическое значение теста для исключения ЦП при концентрации ниже 100 нг/мл составляет максимально возможное значение – 1,0 [1].

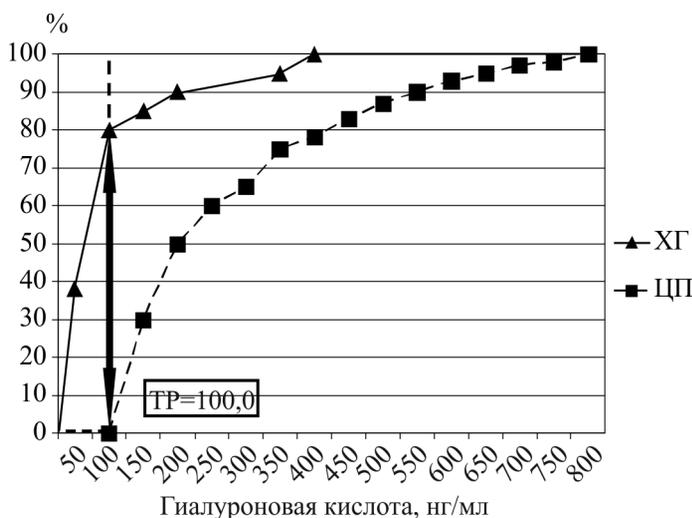


Рис. 1. Кумулятивные кривые концентрации ГК при ХГ и ЦП. Ось ординат – процент обследованных, ось абсцисс – концентрация ГК, TP – точка разделения

Для соотношения АСТ/АЛТ точка разделения составила 1,5. У 4% больных ХГ коэффициент де Ритиса был выше 1,5, что могло быть связано с алкогольным воздействием [6]. При ЦП соотношение АСТ/АЛТ было ниже 1,5 в 31% случаев на фоне выраженного цитолиза. Если за точку разделения взять значение 1,0, как принято считать для дифференциальной диагностики ХГ и ЦП, то

количество пациентов с коэффициентом де Ритиса ниже этого уровня составит 17%. То есть чувствительность теста повысится до 83%, но при этом снизится специфичность до 67%, эффективность составит 75%. Поэтому за точку разделения принято оптимальное соотношение АСТ/АЛТ, обеспечивающее в целом более высокие операционные характеристики показателя и получен-

ное при моделировании. Чувствительность теста исследования соотношения АСТ/АЛТ составляет 69%, специфичность при точке разделения ниже 1,5 достигает 96%. Интегративная эффективность коэффициента де Ритиса для стратификации ХГ и ЦП по данной точке разделения составляет 82%. Положительное прогностическое значение опре-

деления соотношения АСТ/АЛТ выше 1,5 для диагностики ЦП равно 0,95, а отрицательное прогностическое значение теста для исключения ЦП при значении коэффициента де Ритиса меньше 1,5 составляет только 0,76.

Определение операционных характеристик ВЭФР представлено на рис. 2.

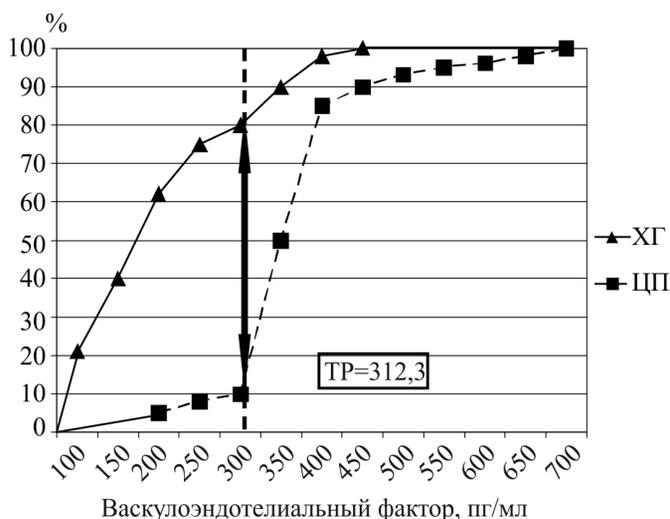


Рис. 2. Кумулятивные кривые концентрации ВЭФР при ХГ и ЦП. Ось ординат – процент обследованных, ось абсцисс – концентрация ВЭФР, TP – точка разделения

Чувствительность теста определения ВЭФР для диагностики ЦП при точке разделения 312,3 пг/мл составила 90% ($100\% - 10\% = 90\%$), специфичность – 80% (верхняя проекция значения точки разделения на ось ординат), что вполне сопоставимо с чувствительностью и специфичностью прямых тестов фиброза печени и гепатопанелей [3]. Эффективность теста при этом составляет 84%. Положительное прогностическое значение теста определения ВЭФР выше 312,3 пг/мл для диагностики ЦП равно 0,81, а отрицательное прогностическое значение теста для исключения ЦП ниже этого значения составляет 0,89. Корреляционные взаимосвязи ВЭФР с ГК и соотношением АСТ/АЛТ подтверждает значение фактора роста сосудистого эндотелия как непрямого маркера

фиброза печени. При этом операционные характеристики ВЭФР для дифференциальной диагностики ХГ и ЦП несколько уступают прямому маркеру фиброза печени – ГК и превосходят традиционный тест – коэффициент де Ритиса.

Выводы

1. Прямой маркер фиброза печени – гиалуроновая кислота является оптимальным тестом дифференциации хронического гепатита и цирроза печени, так как обладает максимальной чувствительностью, эффективностью.
2. Выявлена достоверная взаимосвязь фактора роста сосудистого эндотелия с концентрацией гиалуроновой кислоты и коэффициентом де Ритиса при хронических ви-

русных заболеваниях печени, что подтверждает возможность использования этого теста в качестве непрямого маркера фиброза печени.

3. Эффективность определения васкулоэндотелиального фактора роста несколько уступает возможностям гиалуроновой кислоты и превосходит соотношение АСТ/АЛТ для стратификации хронического гепатита и цирроза печени.

4. Следовательно, такой маркер неоангиогенеза, как васкулоэндотелиальный фактор роста, может использоваться для дифференциации минимального и умеренного фиброза при хроническом гепатите и максимально выраженного фиброза при циррозе печени с диагностической чувствительностью – 90% и специфичностью – 80%, при этом прогностическое значение для исключения цирроза печени достигает 0,89.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Власов В. В. Эффективность диагностических исследований. М: Медицина 1988; 256.
2. Сафиуллина Н. Х. Диагностическая роль коллагена IV типа и гиалуроновой кислоты в оценке степени воспаления и стадии фиброза печени у больных хроническим гепатитом С: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2004; 26.
3. Щёктова А. П. Эндотелин-1 – эффективный тест дифференциальной диагностики хронического гепатита и цирроза печени. Пермский медицинский журнал 2012; 1: 55–59.
4. Baranova A, Lal P, Birerdinc A, Younossi Z. M. Non-invasive markers for hepatic fibrosis BMC. Gastroenterol. 2011; 11: 91.
5. Giannini E, Rizzo D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, Romagnoli P, Testa E, Ceppa P, Testa R. Validity clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. Arch. Intern. Med. 2003; 163(2): 218–224.
6. Saadeh S, Cammell G, Carey W. D., Younossi Z, Barnes D, Easley K. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. Hepatology 2001; 33(1): 196–200.
7. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. J. Pathol. 2008; 214: 199–210.

Материал поступил в редакцию 20.05.2013