

Sérové markery jako neinvazivní alternativa vyšetření jaterní fibrózy

K. Aiglová

Jaterní fibróza je důležitým nálezem v procesu vývoje chronických jaterních onemocnění. Fibróza dnes je chápána jako porucha jinak vyrovnaného procesu jaterní fibrogenese a fibrolýzy. Výsledkem je změna struktury jaterní tkáně s nadměrným ukládáním vazivových hmot, kdy dochází k poruše regulace syntézy a degradace ve prospěch tvorby.

Jaterní fibróza a cirhóza mohou být důsledkem kteréhokoliv onemocnění jater. Fibróza, která je reverzibilní zvýšená akumulace komponent extracelulární matrix v jaterním parenchymu, představuje reakci na chronické jaterní poškození. Fibrogenese je stimulována mnoha možnými faktory, chronickou infekcí virem hepatitidy B, působením alkoholu, autoimunitními mechanismy u autoimunitních hepatitid a primární biliární cirhózy.

Fibróza je dynamický proces, jehož hlavními aktéry jsou hvězdicové buňky a extracelulární matrix. Při fibrogenезi dochází k 3-6 násobnému vzestupu objemu extracelulární matrix. Hlavními komponentami extracelulární matrix jsou kolageny (typ I, III, IV, VI), nekolagenní glykoproteiny (fibronectin, tenascin, undulin), proteoglykany (laminin, vitronectin, biglycan, aggrecan, syndecan, decordin). Glykosaminoglykany představují část proteoglykanů (kyselina hyaluronová, chondroitinsulfát, dermatansulfát). Obsah jednotlivých složek ECM se v různé míře díky fibrogenезi zvyšuje, jejich stanovení potom odráží množství ECM, a tedy i přítomnost fibrózy. Registrujeme vyšší hladiny kyseliny hyaluronové, lamininu, undulinu. V játrech se mění zastoupení kolagenů, definitivně převládá kolagen I a představuje 60-70 % kolagenu v cirhotických játrech. K rozvoji fibrózy dochází také díky snížené degradaci ECM. Tu regulují matrix metaloproteinázy (MMP) a jejich specifické inhibitory (TIMP-tissue inhibitor of metalloproteinases), enzymy aktivující různé latentní metaloproteinázy- stromelysin, plasmin.

Hvězdicové (Itovy) buňky se nacházejí v Disseho prostorech, střežadí kapénky lipidů a vitamin A. Jsou schopny přeměny v myofibroblasty, které produkují mezibuněčnou hmotu (kolagen, heparansulfát, dermatan-, chondroitinsulfát a další proteoglykany,

laminin, fibronectin, tenascin, decordin) a růstové faktory. Aktivace Itoových buněk spočívá ve stimulaci jejich buněčné proliferace a fenotypové přeměně v myofibroblasty. Kromě produkce komponent extracelulární matrix jsou kontraktilní a jsou tedy schopny omezovat průtok krve sinusoidami, a tak přispět k rozvoji portální hypertenze.

K aktivaci hvězdicových bb. dochází při poškození hepatocytů, z membrány hepatocytů se uvolňují mitogeny (peroxydy lipidů), které stimulují proliferaci hvězdicových bb.

V průběhu nekro-inflamatorních pochodů v játrech se uvolňují další cytokiny: z aktivovaných Kupferových buněk- TGF-beta, TGF-alfa, z trombocytů PDGF, TGF beta, oba představují pro Itovy bb. silné proliferativní stimuly. Posléze hvězdicovité bb. transformované v myofibroblasty samy uvolňují růstové faktory a cytokiny a tak sami svou autokrinní aktivitou podporují fibrogenезi.

Jaterní fibróza vzbuzuje pozornost svým významem. Je mezníkem v progresi chronických jaterních onemocnění, u chronické hepatitidy C je přítomnost fibrózy důležitým faktorem pro indikaci antivirové léčby pegylovaným interferonem a ribavirinem, stupeň fibrózy patří mezi predikční faktory odpovědi na léčbu.

DIAGNOSTIKA JATERNÍ FIBRÓZY

Jaterní biopsie s následným histologickým vyšetřením je stále „zlatým standardem“ v diagnostice jaterní fibrózy. Reprezentativní, kvalitně odebraný váleček jaterní tkáně, cca 20 mm dlouhý a obsahující nejméně 4 portální pole, představuje 1/50 000 celého orgánu. V současnosti jsou užívány k jednotnému hodnocení histologických nálezů klasifikace dle Battse a Ludwiga, klasifikace METAVIR a klasifikace dle Ishaka.

Jaterní biopsie má však svá úskalí- invazivitu, riziko komplikací a kontraindikace. Biopsie může u některých pacientů vzbuzovat obavy z bolesti. Z komplikací se mohou vyskytnout kromě bolesti krvácení, pneumothorax, hemothorax, pleurální výpotek, poranění žlučových cest, biliární peritonitis, bakteriemie, sepse, absces jater, arteriovenózní píštěl, reakce na anestetikum, zlomení jehly i biopsie jiných orgánů.

Smrtelné komplikace se vyskytují zřídka, úmrtí v souvislosti s jaterní biopsií byla zaznamenána v 0,0088-0,3 % případů.

Je tedy zřejmé, že i navzdory všem přednostem histologického vyšetření, pokračuje snaha najít neinvazivní a reprodukovatelné alternativy jaterní bi-

opsie, které by přispěly k diagnostice jaterní fibrózy, jejímu sledování v průběhu let. Mezi tyto neinvazivní metody řadíme: sérové testy, zobrazovací metody, Fibroscan, dechové testy.

SÉROVÉ TESTY

zahrnují řadu molekul, enzymů a testů, které odrážejí v různé míře přítomnost a stupeň fibrózy, jejich užití je možné jak v okamžiku stanovení diagnózy, tak hlavně ke sledování progresu či ústupu fibrotických změn v průběhu onemocnění, během antivirové a antifibrotické léčby. Ideální sérový marker jaterní fibrózy by měl být specifický pro játra, nezávislý na metabolických změnách, minimálně ovlivnitelný změnami exkrece žluči a onemocněním ledvin. Dalšími požadavky jsou snadné provedení a možnost opakování.

Sérové markery I. třídy

jde o tzv. nerutinní markery, jejichž užití vychází přímo z poznatků o jaterní fibrogenézi. Jde o komponenty extracelulární matrix, které jsou v nadměrné míře produkovány aktivovanými hvězdicovitými buňkami. Řadíme do této skupiny kyselinu hyaluronovou, laminin, YKL-40, alfa 2 makroglobulin, undulin, tenascin, N-terminální propeptid kolagenu typu III, matrix metaloproteinázy, tkáňový inhibitor matrix metaloproteinázy, prolylhydroxylázu.

Největšího uplatnění z této skupiny dosáhly kyselina hyaluronová a alfa2 makroglobulin, jak stanovení HA a A2M samotných, tak jejich užití jako veličin v sérových markerech II. třídy.

Kyselina hyaluronová je produkována hvězdicovitými buňkami jater a rovněž tak z velké části je játry eliminována, jen v malé míře je vylučována ledvinami. Koncentrace hyaluronové kyseliny v normálních játrech je nízká, ve fibrotických játrech stoupá 2-10krát. Sérová koncentrace hyaluronové kyseliny je signifikantně zvýšená u jaterní cirhózy. Elevace sérových hodnot kyseliny hyaluronové odráží zvýšenou aktivitu hvězdicovitých buněk a sníženou clearance endoteliálními buňkami jater. Bylo prokázáno, že sérová hladina kyseliny hyaluronové klesá u pacientů s chronickou HCV hepatitidou během léčby interferonem alfa, kdy je i zjištěno zlepšení stagingu.

Alfa 2 makroglobulin

je protein akutní fáze, který je secernován hepatocyty a aktivovanými Itoovými buňkami. Zároveň je proteázovým inhibitorem a jeho zvýšená syntéza může negativně ovlivnit katabolismus proteinů ECM, a tím přispět k progresi fibrózy. Při jaterní fibróze dochází k nárůstu hodnoty A2M a je zahr-

nut do matematických modelů k vyšetření jaterní fibrózy: FibroTest, ActiTest, PGAA index, Patelovo skóre, Fibrometer, Hepascore.

Sérové markery II. třídy

Jsou nazývány „rutinní markery“, jsou odvozeny od standardních laboratorních testů, nesouvisí bezprostředně s patogenezi fibrózy, ale při fibróze a cirhóze se mění. Byly vybírány tak, aby za použití různých matematických modelů poskytovaly co nejlepší nástroj pro detekci fibrózy, pro staging a grading jaterního onemocnění. Bylo navrženo mnoho různých kombinací parametrů, včetně ukazatelů nekrózy, jako jsou AST, ALT, koagulačních testů, stanovení transportních proteinů, bilirubinu a dalších.

Často se bere v úvahu pokles počtu trombocytů, způsobený u cirhotiků sekvestrací trombocytů do zvětšené sleziny a sníženou syntézou trombopoetinu v metabolicky insuficientních játrech.

K detekci jaterní cirhózy snadno poslouží de Ritisův index - poměr AST/ALT >1.

FibroTest

Je patentovaný, ve velké míře profesionálně užívaný test, kalkuluje s výsledky 6 parametrů. V současné době je FibroTest stavěn často na stejnou úroveň jako jaterní biopsie. FibroTest byl poprvé prezentován v roce 2002. Studie zahrnovala 125 pacientů s chronickou hepatitidou C, kteří podstoupili jaterní biopsii ve stejném čase jako krevní testy.

Skóre je počítáno z těchto parametrů: věk, pohlaví, alfa2makroglobulin, bilirubin, aktivita gamaglutamyltransferázy, apolipoprotein A1 a haptoglobin.

Rovnice pro výpočet FibroTestu je

$$z = 4,467 \times \log_{10} [\text{alfa2makroglobulin (g/L)}] - 1,357 \times \log_{10} [\text{haptoglobin (g/L)}] + 1,017 \times \log_{10} [\text{GMT (IU/L)}] + 0,0281 \times [\text{věk (roky)}] + 1,737 \times \log_{10} [\text{bilirubin } (\mu\text{mol/L)}] - 1,184 \times [\text{apolipoprotein A1 (g/L)}] + 0,301 \times \text{pohlaví} (\text{žena}=0, \text{muž}=1) - 5,54$$

Negativní prediktivní hodnota FibroTestu < 0,1 označující fibrózu F2-4 je 85 %, pozitivní prediktivní hodnota skóre >0,6 je 78 %. Výsledek FibroTestu je možné rovněž spočítat na webových stránkách společnosti BioPredictive.

FibroTest byl východiskem pro další matematické modely:

- ActiTest-pro dignostiku nekro-inflamatorních změn, FibroTest+ALT
- SteatoTest-diagnostika jaterní steatózy-Fibrotest+ body mass index, cholesterol, triglyceridy, glukóza
- NashTest-diagnostika nealkoholové steatohepatitidy, FibroTest+výška, váha, triglyceridy, cholesterol, ALT, AST

AshTest-diagnostika alkoholové hepatitidy, Fibro-Test+ALT, AST

Kombinací testů-Fibro, Acti, Ash, Steato vznikl FibroMAX.

FibroTest by neměl být užíván v případech, kdy jde o akutní virovou hepatitidu A, B, C, D, E, polékovou hepatitidu, extrahepatickou cholestázu, těžkou hemolýzu, Gilbertův syndrom s vysokou nekonjugovanou hyperbilirubinemií, u akutních zánětlivých onemocnění. Podle písemnictví je výsledek FibroTestu srovnatelný diagnosticky jako vzorek jaterní tkáně o délce 25 mm.

Většina tzv. rutinních testů byla sestavena na souborech pacientů s chronickou hepatitidou C, ev. duální infekcí HCV/HIV. Jde o tyto testy:

Fornsův index

$7,811 - 3,131 \cdot \ln(\text{PLT}) + 0,781 \cdot \ln(\text{GMT}) + 3,467 \cdot \ln(\text{věk}) - 0,014 \cdot (\text{cholesterol})$

Věk byl zvolen jako parametr, protože stupeň fibrózy je závislý na času, přesnějším indikátorem než věk by bylo trvání HCV infekce. Nízký počet trombocytů je známkou těžké fibrózy. Trombopenie je u pacientů s pokročilým jaterním onemocněním často spojena s portální hypertenzí a sníženou tvorbou trombopoetinu. Zvýšená aktivity GMT je nezávislým prediktorem poškození žlučovýchodů, protože HCV infekce často způsobuje jejich poškození.

APRI Test, který vychází z poměru AST a počtu trombocytů

Hepascore je doporučován i u nemocných s alkoholovým onemocněním jater

$HS = y / 1 + y$

$y = \exp[-4,185818 - (0,0249 \times \text{věk}) + (0,7464 \times \text{pohlaví}) + (1,0039 \times \text{A2M}) + (0,032 \times \text{kyselina hyaluronová}) + (0,0691 \times \text{bilirubin}) - (0,0012 \times \text{GGT})]$

věk-roky, mužské pohlaví=1, ženské pohlaví=0, A2M v g/l, kyselina hyaluronová v uU/l

Hodnota větší než 0,84 svědčí pro jaterní cirhózu.

Fib4=[věk x AST(IU/l)] / [PLT(10⁹/l)xALT(IU/l)]

FibroFast skóre=[Albumin(g/l) x 0,3 + PLT(10⁹/l)x0,05] - [ALP(IU/l) x 0,014 + AST/ALT ratio x 6 + 14]

FibroIndex =1,738-0,064[PLT[x10⁴/mm³]] + 0,005 (AST[IU/l]) + 0,463 (gamaglobuliny[g/dl])

Fibrometer

Představuje skupinu krevních testů pro vyšetření stadiu jaterního onemocnění, výsledky těchto sérových testů byly porovnávány ve velkých sou-

borech s výsledkem histologického vyšetření. Bylo definováno několik typů Fibrometru podle etiologie jaterního onemocnění:

- pro HCV infekci a duální infekci HCV/HIV-zahrnuje parametry-věk, pohlaví, alfa2 makroglobulin, protrombinový čas, PLT, AST, urea, GMT, ALT
- pro alkoholové postižení jater-věk, pohlaví, alfa2 makroglobulin, kyselina hyaluronová, protrombinový čas
- pro metabolický syndrom-věk, pohlaví, váha pacienta, PLT, AST, ALT, feritin, glukóza

Test podle Fortunata

Je určen k detekci cirhózy a spočívá na 6 biochemických parametrech-fibronektin, protrombin, pseudocholinesteráza, ALT, Mangan superoxid dismutáza, N acetyl beta glukosaminidáza..

Skóre = PCHE(ukat/l)x 0,00011+fibronektin(mg/l) x 0,039+ln protrombin(%) x 3,51+ln ALT(ukat/l) x 0,49-ln beta NAG(ukat/l) x 0,51 - ln MnSOD (ukat/l) x 1,29-9,41

ELF test (enhanced liver fibrosis)

Byl původně užíván k vyšetření fibrózy u pacientů s alkoholickým postižením jater nebo u nealkoholické steatohepatitidy a zahrnoval i věk jako jednu z veličin, Trépo a spolupracovníci jej užili pro vyšetření fibrózy u pacientů s chronickou hepatitidou C. ELF test vychází ze stanovení kyseliny hyaluronové, tkáňového inhibitoru matrix metaloproteinázy 1 a N-terminálního propeptidu kolagenu typu III.

Liverscore-Test, který původně obsahoval 9 parametrů-věk, pohlaví, celkový bilirubin, ALT, GMT, Alfa2makroglobulin(A2M) apolipoprotein A1(apoA1) hydroxyprolin(HYP) a kyselinu hyaluronovou (HA). Postupně byly vypuštěny- bilirubin, pohlaví a hydroxyprolin.

Vyšetření HYP je drahé a málo dostupné ve většině laboratoří, vynechání bilirubinu a pohlaví přináší zásadnější rozdíly ve výsledcích, které odpovídají jednotlivým stupňům fibrózy.

V konečné podobě má Liverscore tento tvar

Liverscore = -1,578+0,018 (věk)+ 0,023 (ALT) + 0,021 (GMT) + 0,152 (A2M) - 0,015 (ApoA1) + 0,014 (HA)

ALT a GMT jsou vyjádřeny v U/L, A2M v g/L, apoA1 v mg/dL, a HA v ng/mL.

Výsledky byly porovnány se stupněm fibrózy zjištěným histologicky. Výsledek Liverscore 0,40 a nižší vylučuje přítomnost signifikantní fibrózy. Výsledek vyšší než 0,8 znamená přítomnost významné fibrózy F2-F4.

Cirrhosis discriminant score

CDS 8 a vyšší má senzitivitu 46 % a specificitu 98 % pro diagnózu jaterní fibrózy F3 nebo F4.

Trombocyty ($\times 10^9/L$): $>340 = 0$; $280-339 = 1$; $220-279 = 2$; $160-219 = 3$; $100-159 = 4$;

$40-99 = 5$; $<40 = 6$

ALT/AST ratio: $>1.7 = 0$; $1.2-1.7 = 1$; $0.6-1.19 = 2$; $<0.6 = 3$

INR: $<1.1 = 0$; $1.1-1.4 = 1$; $>1.4 = 2$

CDS je součtem výše uvedených výsledků (možné hodnoty 0–11).

AP index věk (roky): $<30 = 0$; $30-39 = 1$; $40-49 = 2$; $50-59 = 3$; $60-69 = 4$; $\geq 70 = 5$

Trombocyty ($\times 10^9/L$): $\geq 225 = 0$; $200-224 = 1$; $175-199 = 2$; $150-174 = 3$;

$125-149 = 4$; $<125 = 5$

AP je součtem výše uvedených výsledků (možné výsledky 0–10).

AP index 6 a vyšší je signifikantní pro pokročilou fibrózu.

ViraHep-C

Jeho parametry jsou věk, AST, trombocyty a ALP. V porovnání s APRI, AST/ALT, CDS, a AP indexem se jeví jako lepší, zahrnuje v sobě většinu parametrů

obsažených ve zmíněných modelech. Göteborg University Cirrhosis Index (GUCI) zahrnuje AST, INR a trombocyty. Skóre je určeno k detekci pacientů s jaterní cirhózou

ZÁVĚR

Sérové markery, stejně jako ostatní neinvazivní metody, své širší uplatnění v diagnostice jaterní fibrózy teprve získávají. Jistou inspirací by pro nás mohly být zkušenosti zahraničních hepatologů.

Francouzské lékařské autority oficiálně schvalují upřednostnění neinvazivního způsobu diagnostiky fibrózy u pacientů s chronickou hepatitidou C před jaterní biopsií. Na prvním místě doporučují vyšetření sérových markerů fibrózy tzv. biomarkery, zejména FibroTest a elastografii Fibroscanem. Jaterní biopsii až jako druhou volbu při rozporných nebo těžko interpretovatelných výsledcích.

I když jaterní biopsii s histologickým vyšetřením nemůžeme nikdy zcela nahradit, větší využití neinvazivních alternativ by bylo jistě s povděkem přijato i u našich pacientů.

Použitá literatura u autora