

НЕИНВАЗИВНИ БИОМАРКЕРИ ЗА ОЦЕНКА НА НЕАЛКОХОЛНАТА МАСТНА ЧЕРНОДРОБНА БОЛЕСТ (НАМЧБ)

Павлина Бойкова, Ирина Иванова, Искрен Коцев

Клиника по Гастроентерология, УМБАЛ „Света Марина“,
Медицински университет - Варна

NON-INVASIVE BIOMARKERS FOR ASSESSMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Pavlina Boykova, Irina Ivanova, Iskren Kotzev

Clinic of Gastroenterology, St. Marina University Hospital, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Въведение и цели: Неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ) е значим обществен здравен проблем, засягащ близо един милиард хора по цял свят. Златен стандарт за поставяне на диагнозата НАМЧБ и за стадиране на фиброзата и определяне наличието на възпаление е чернодробната биопсия с хистологично изследване. Предвид инвазивността и възможните усложнения от биопсията са необходими неинвазивни биомаркери за стадиране и оценка на НАМЧБ. Използвахме комбиниран подход от образни изследвания и клинично-лабораторни биомаркери за стадиране на чернодробната стеатоза и фиброза и определяне наличието на НАМЧБ и доказване на прогресивната форма на болестта - неалкохолен стеатозен хепатит (НАСХ).

Материал и методи: Изследвахме 60 пациента с наличие на метаболитен синдром и предполагаема НАМЧБ. Изключен бе прием на алкохол над 20 гр/ден и други причини за вторична стеатоза. Оценени бяха: антропометрични показатели (ръст, тегло, коремна обиколка), лабораторни изследвания на ПКК, чернодробни ензими, липиден профил, глюкоза. Изчислени бяха индиректните маркери за фиброза и стеатоза. Извършена бе абдоминална ехография, фиброскан еластография с М сонда (XL сонда само при 5%) и измерване на CAP (количествен параметър за оценка на стеатозата).

Резултати: Средната възраст на пациентите е 59 години, 59% са жени, 72% от пациентите са с диагностициран захарен диабет (ЗД). Средното тегло е 90.3 кг, среден BMI 32 кг/м² и средна коремна обиколка 112.8 см. Според изчисленията на Hepatic Steatosis Index (HSI) 4% от пациентите са без НАМЧБ (HSI<30), 4% попадат в сивата зона и 92% са с НАМЧБ (HSI>36). Ехографските дан-

ABSTRACT

Background and Aim: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a major public health problem afflicting approximately one billion individuals worldwide. Liver biopsy is considered the gold standard for assessment of liver disease severity in patients with NAFLD. It is invasive and is associated with adverse effects, and also has higher inter-observer variability. Liver biopsy is impractical because of large number of individuals who have NAFLD and is not appropriate for screening. Therefore, non-invasive biomarkers to assess disease severity in NAFLD are needed. We use a combined approach of non-invasive imaging modalities and clinical, biochemical, metabolic and lipid biomarkers to grade liver fat and liver fibrosis, to assess presence of NAFLD, and to detect the progressive form of NAFLD, termed non-alcoholic steatohepatitis.

Methods: We evaluated 60 patients with presence of metabolic syndrome and suspected NAFLD. Other liver diseases, alcohol consumption ≥ 20 g/day, and use of drugs associated with liver steatosis were excluded. Anthropometric variables (weight, BMI, waist circumference), liver function tests, full blood count, serum lipids, fasting glucose, abdominal ultrasonography, liver transient elastography (TE) with fibroscan M probe (XL probe only in 5%) and CAP (controlled attenuation parameter) were assessed. The cut-off values for CAP and TE were defined as previously published. Indirect markers for fibrosis and steatosis were calculated.

Results: The mean age was 59 years, 59% female. 72% patients had diagnosis of diabetes mellitus (DM). The median weight was 90.3 kg, median BMI 32 kg/m² and median waist circumference – 112.8 cm. According to the Hepatic Steatosis Index, 4% of the patients were without NAFLD (HSI below 30) and 92% showed HSI higher than 36. Abdominal ultrasonography findings of hepatic steatosis were: 6% with no evidence of ste-

ни за чернодробна стеатоза са съответно: 6% без стеатоза, 15% от пациентите са с I степен стеатоза, 26% са с II степен стеатоза и 53% са с III степен стеатоза. 6% от пациентите са с CAP стойност под 215 db/m (предполагаема стеатоза в 33% от чернодробната тъкан). CAP стойности между 217 db/m и 252 db/m се установиха при 10% от пациентите (стеатоза 34%-66%), CAP стойност между 253 db/m и 296 db/m - при 25% (стеатоза над 67%) и 58% от пациентите имат CAP стойност над 297 db/m. Оценката на фиброзата според FIB 4 Index е съответно: FIB 4 <1.3 при 70%, FIB 4 със стойности 1.3÷2.67 при 22% от пациентите и значима фиброза с FIB 4 >2.67 се установи при 7.5% от пациентите. Данните от фиброскан еластографията показват значима фиброза ≥ 7.9 kPa при 34% от пациентите.

Заключение: Наблюдава се значима корелация между лабораторните и образни данни (абдоминална ехография и CAP) по отношение оценяване на наличието на стеатоза. Комбинираният подход от неинвазивни биомаркери се препоръчва за диагностициране и стадирание на чернодробната стеатоза и фиброза и установяване наличието на прогресивната форма на болестта неалкохолна стеатозен хепатит.

Ключови думи: неалкохолна мастна чернодробна болест, неинвазивни маркери, фиброскан еластография

atosis, 15% with grade I, 26% with grade II, and 53% with grade III. The share of patients with CAP value under 215 db/m was 6% (suggestive steatosis under 33%), with CAP value between 217 db/m and 252 db/m – 10% (steatosis 34%-66%), with CAP value between 253 db/m and 296 db/m – 25% (steatosis over 67%), and 58% of patients had CAP value over 297 db/m. A FIB-4 index below 1.3 was found in 70% of patients. Respectively, 22% had FIB-4 index between 1.3 and 2.67. The share of patients with significant fibrosis with higher FIB-4 was 7.5%. TE values ≥ 7.9 kPa were identified in 34% of patients.

Conclusion: A combined approach of non-invasive biomarkers is better recommended for the diagnosis and grading of liver steatosis and for the detection of progressive forms of NAFLD.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, non-invasive markers, fibroscan elastography

ВЪВЕДЕНИЕ И ЦЕЛИ

Неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ) е значим обществен здравен проблем, засягаща близо един милиард хора по цял свят. Златен стандарт за поставяне на диагнозата НАМЧБ и за стадирание на фиброзата и определяне наличието на възпаление е чернодробната биопсия с хистологично изследване. Чернодробната биопсия е високорисково, инвазивно изследване, което не е подходящо за провеждане на скриниране, проследяване или изследване на големи групи от хора. Необходими са неинвазивни биомаркери за стадирание и оценка на НАМЧБ. Използвахме комбиниран подход, включващ образни изследвания - абдоминална ехография, фиброскан еластография (ФЕ) и фиброскан определяне на CAP (количествен параметър за оценка на стеатозата), както и клинично-лабора-

торни биомаркери за стадирание на чернодробната стеатоза и фиброза и определяне наличието на НАМЧБ и доказване на прогресивната форма на болестта - неалкохолна стеатозен хепатит .

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изследвахме 60 пациента с наличие на метаболитен синдром и предполагаема НАМЧБ. Изключен бе прием на алкохол над 20 гр/ден и други причини за вторична стеатоза. Оценени бяха: антропометрични показатели (ръст, тегло, коремна обиколка), лабораторни изследвания на ПКК, чернодробни ензими, липиден профил, глюкоза. Изчислени бяха индиректните маркери за фиброза и стеатоза. Извършена бе абдоминална ехография, фиброскан еластография с М сонда (XL сонда само при 5%) и измерване на CAP. За гранични стойности

на ФЕ и САР бяха приети последно публикуваните в световната литература.

РЕЗУЛТАТИ

Средната възраст на пациентите е 59 години, 59% са жени, 72% от изследваните пациенти са с диагностициран захарен диабет (ЗД). Средното тегло е 90.3 кг, среден ВМІ 32 кг/м² и средна коремна обиколка 112.8 см. Според изчисления Hepatic Steatosis Index (HSI) 4% от пациентите са без НАМЧБ (HSI < 30), 4% попадат в сивата зона и 92% са с НАМЧБ (HSI > 36). Ехографските данни за чернодробна стеатоза са съответно: 6% без стеатоза, 15% от пациентите са с I степен стеатоза, 26% са с II степен стеатоза и 53% са с III степен стеатоза. 6% от пациентите са с САР стойност под 215 db/m (предполагаема стеатоза в 33% от чернодробната тъкан), САР стойности между 217 db/m и 252 db/m се установиха при 10% от пациентите (стеатоза 34%-66%), САР стойност между 253 db/m и 296 db/m - при 25% (стеатоза над 67%) и 58% от пациентите имат САР стойност над 297 db/m. Оценката на фиброзата според FIB 4 index е съответно: FIB 4 < 1.3 при 70%, FIB 4 със стойности 1.3÷2.67 при 22% от пациентите и значима фиброза с FIB 4 > 2.67 се установи при 7.5% от пациентите. Данните от фиброскан еластографията показват значима фиброза ≥ 7.9 kPa при сравнително по-голям брой от пациентите - 34% .

ДИСКУСИЯ

Неалкохолната мастна чернодробна болест (НАМЧБ) е обществен здравен проблем с глобално значение, засягащ приблизително един милиард индивида по света. НАМЧБ се определя с наличие на чернодробна стеатоза в над 5% от хепатоцитите, установена чрез образни изследвания или хистологично изследване, при индивиди, употребяващи малко количество или никакъв алкохол, и при които е изключено наличие на вторична причина за стеатоза. НАМЧБ се подразделя на две основни групи: неалкохолна стеатоза на черния дроб (НАСЧ) и неалкохолен стеатозен хепатит (НАСХ). Счита се, че НАСЧ е непро-

гресивната форма на НАМЧБ, при която има минимална до липсваща прогресия до цироза и липса на чернодробно-свързана смъртност, докато НАСХ е прогресивната форма, водеща до развитие на фиброза, цироза, хепатоцелуларен карцином и повишена чернодробно-свързана смъртност (1,2,3). Неалкохолната мастна чернодробна болест е най-честата чернодробна увреда в Западните страни, засягаща 17-46% от възрастните (1,2). Наблюдаваните различия в съобщаваната честота от различните проучвания се дължи на различията в използвания диагностичен метод. Честотата на НАМЧБ е паралелна с честотата на разпространение на метаболитния синдром и неговите компоненти, които увеличават риска от развитие на по-напреднала болест (4). В световен мащаб се наблюдава нарастване на честотата на метаболитния синдром, както и епидемия от затлъстяване, което предполага тенденция за увеличаване на честотата и на НАМЧБ. НАМЧБ се открива и при 7% от хората с нормално телесно тегло (слаби), по-често при жени в млада възраст, и при пациенти с нормални чернодробни ензими. Въпреки това, чернодробната болест при тях може да е напреднала (5).

Захарен диабет тип 2 (ЗДт2) е рисков фактор за НАМЧБ. Наблюдава се много висока честота на НАМЧБ при пациенти със ЗДт2. Проучвания предполагат, че една трета до две трети от диабетиците имат НАМЧБ (6). ЗДт2 и НАМЧБ могат да се извият едновременно, което поставя въпроса за честотата на НАМЧБ при ЗДт2, както и обратното - честотата на ЗДт2 при пациенти с НАМЧБ (7). Сходни са данните и от нашето проучване, което показва честота 72% на ЗДт2 при изследваните пациенти с НАМЧБ. Остава отворен и въпросът за необходимостта от скрининг при пациенти със ЗДт2 за НАМЧБ и обратно. Проучвания показват, че НАМЧБ се установява при 50% от пациентите с дислипидемия (8). Литературни данни посочват два пъти по-висока честота на НАМЧБ при мъже, както и нарастване на честотата и тежестта на болестта с напредване на възрастта (9).

Според нашите данни 59% са жени, спрямо 41% мъже.

Златен стандарт за поставяне на диагнозата НАСХ и определяне степента на фиброзата при пациентите с НАМЧБ е хистологичното изследване. Всеизвестно е обаче, че чернодробната биопсия има своите недостатъци и ограничения предвид цената, възможността за т.нар. sampling error и свързаните с процедурата възможни усложнения, водещи до морбидност и смъртност (2). Също така чернодробната биопсия не е подходяща за изследване на голяма група от хора и за провеждане на скрининг. Затова през последното десетилетие се изследват и използват все повече неинвазивни биомаркери, които да определят пациентите с неалкохолен стеатозен хепатит и напреднала фиброза. Целта на неинвазивните маркери е: в първичната помощ да оценят риска от НАМЧБ сред пациенти с повишен метаболитен риск; във вторична и третична помощ да определят пациентите с лоша прогноза или с тежък НАСХ; да мониторира прогресията на болестта; да мониторира отговора на лечение. Постигането на тези цели може да намали нуждата от биопсия.

Повишеното натрупване на мазнини в чернодробния паренхим - стеатозата се установява чрез образни методи – ултрасонография (УЗ), компютърна томография (КТ) и магнитно-резонансно изследване (МРИ). Метод на първи избор е ехографията. Проспективно проучване при пациенти с НАМЧБ, сравняващо резултатите от хистологичното изследване с резултатите от УЗ, МРИ и КТ, показва че УЗ долавянето на стеатоза е 100% при над 33% мастно съдържание в чернодробния паренхим, а при КТ има 93% чувствителност за стеатоза над 33%, но нито един от образните методи не дава информация за наличието на НАСХ (10). Нов обещаващ неинвазивен метод за количествена оценка на стеатозата е определяне на “Controlled Attenuation Parameter” (CAP). Този софтуер е наличен в еластографите на Echosens и измерва намаляването на интензивността на ехото от

ултразвуковите сигнали в черния дроб (наличен в М и XL сондата). Проучване степенува стеатозата хистологично съответно на: S0 - $\leq 10\%$, S1 - 11% до 33%, S2 - 34% до 66%, S3 - $\geq 67\%$ и корелира тези резултати с CAP. Авторите определят cut-off на чувствителност 90% за всички степени на стеатоза: S1 – над 215 dB/m, S2 – над 252 dB/m, S3 - над 296 dB/m (11,12). Посоченото проучване посочва, че CAP е по-информативен от Steatotest, FLI или Hepatic Steatosis Index (11). Най-добре валидираните стеатозни скорове според последния гайдлайн на EASL-EASD-EASO са Fatty Liver Index (FLI), SteatoTest и NAFLD Liver Fat Score (1). Тези скорове са валидирани за общата популация и за пациенти с III степен на затлъстяване. Те вариabilно предсказват метаболитните, чернодробни и кардиоваскуларни последици и заболяемост. Всички тези скорове са свързани с инсулиновата резистентност и доказват наличието, но не и тежестта на стеатозата.

Определянето на CAP при FibroScan[®]), позволява оценяване едновременно на стеатозата и фиброзата чрез еластографското изследване, като по този начин се разширява спектъра на неинвазивните техники за оценка на хроничните чернодробни болести. Фиброзата е най-важният прогностичен фактор при НАМЧБ и корелира с чернодробните усложнения и смъртност при НАМЧБ (13). Много серумни маркери се оказват с приемлива диагностична точност според AUROC > 0.8. От тях NFS – NAFLD Fibrosis Score и FIB – 4 калкулаторът са валидирани в етнически различни популации на пациенти с НАМЧБ със съвместими резултати (1,2). Негативната им предсказваща стойност за изключване на напреднала фиброза е по-висока, отколкото позитивната предсказваща стойност. Фиброскан TE има висока точност за оценяване на напредналата фиброза и цироза. Цирозата се разграничава по-добре с F4, отколкото напредналата фиброза с F3. При TE честотата на фалшиво положителните резултати е по-висока от тази на фалшиво негативните, а негативната ѝ предсказваща стойност е по-висока от позитивната (14),

следователно неинвазивните тестове със сигурност могат да се използват като първа линия рискова стратификация за изключване на напреднала болест (1). Проучване сравнява резултатите от еластография и чернодробна биопсия при 120 пациенти с НАМЧБ. Авторите предлагат следния cut-off за диагностициране на F3 – 6.6 кРа (5.3 – 8.9 кРа), за F4 – 14.4 кРа (12.1 – 24.3 кРа). За оптимален cut-off за напреднала фиброза е предложена стойност от 9.9 кРа и се приема, че 100% от пациентите с чернодробна плътност под 7.9 кРа нямат напреднала фиброза (15).

Предполага се, че комбинацията от еластография и серумни маркери има предимства по отношение диагностика и мониториране, сравнено с всеки метод поотделно. Необходими са допълнителни проучвания в тази област. Тъй като наличието на напреднала фиброза при НАМЧБ е най-важният предиктор на чернодробно-зависимата заболяемост и смъртност, е необходима ефективна неинвазивна стратификация на риска с оглед откриване на високорискови пациенти – тези с напреднала фиброза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Наблюдава се значима корелация между лабораторните и образни данни (абдоминална ехография и САР) по отношение оценяване наличието на стеатоза. ТЕ изследването е по-чувствително в сравнение със серумните скорове по отношение диагностициране на напреднала фиброза. Комбинираният подход от неинвазивни биомаркери се препоръчва за диагностициране и стадиране на чернодробната стеатоза и фиброза и установяване наличието на прогресивната форма на болестта неалкохолна стеатозен хепатит.

ЛИТЕРАТУРА

1. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease, *Journal of Hepatology* 2016, vol.64;
2. The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases, *HEPATOLOGY*, VOL. 67, NO. 1, 2018
3. Stefano Bellentani, MD, PhD; Gioconda Saccoccio, MD; Flora Masutti, MD; Lory S. Crocè, MD; Giovanni Brandi, at al, Prevalence of and Risk Factors for Hepatic Steatosis in Northern Italy, *Annals of Internal Medicine*, 18 January 2000 Vol: 132, Issue 2
4. Vernon GI, Baranova A, Younossi ZM; Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults, *Aliment Pharmacol Ther*, august 2011
5. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, Andreoletti M, Colli A, Vanni E, at al; Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes, *Hepatology*, Volume48, Issue3, September 2008
6. Nathalie C. Leite Gil F. Salles Antonio L. E. Araujo Cristiane A. Villela-Nogueira Claudia R. L. Cardoso; Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus; *Liver International*, december 2008
7. Barbara Fruci, Stefania Giuliano, Angela Mazza, Roberta Malaguarnera, and Antonino Belfiore, Nonalcoholic Fatty Liver: A Possible New Target for Type 2 Diabetes Prevention and Treatment; *Int J Mol Sci*. 2013 Nov;
8. Assy N, Kaita K, Mymin D, Levy C, Rosser B, Minuk G.; Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients.; *Digestive diseases and sciences*, 2000 Oct
9. Koehler EM1, Schouten JN, Hansen BE, van Rooij FJ, Hofman A, Stricker BH at al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in the elderly: results from the Rotterdam study *Journal of Hepatology*, December 2012
10. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*; 2002;

11. de Lédinghen V1, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W, le Bail B., Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography., Liver international, 2012;
12. De Ledinghen V, Wong GL, Vergniol J, Chan HL, Hiriart JB, Chan AW, et al. Controlled attenuation parameter for the diagnosis of steatosis in non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol Hepatol 2016;
13. Ekstedt M, Hagstrom H, Nasr P, Fredrikson M, Stal P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. Hepatology 2015
14. Guha IN, Parkes J, Roderick P, Chattopadhyay D, Cross R, Harris S, et al. Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers. Hepatology 2008; 1.
15. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 2010;
16. Tapper EB, Challies T, Nasser I, Afdhal NH, Lai M. The performance of vibration controlled transient elastography in a US cohort of patients with nonalcoholic fatty liver disease. Am J Gastroenterol 2016
17. R.Loomba, Role of imaging-based biomarkers in NAFLD: Racant advances in clinical application and future research directions, J of Hepatology, 2018, vol 68
18. Eduardo Vilar-Gomez, Naga Chalasani, Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers, J of Hepatology, 2018, vol 68

Адрес за кореспонденция:

Павлина Бойкова
Клиника по гастроентерология
УМБАЛ „Св. Марина“
бул. „Христо Смирненски“ №1
9000 Варна
e-mail: pavlina_gbv@abv.bg
