

Mechanizmy włóknienia wątroby i metody ich oceny

Mechanisms of liver fibrosis and methods of its assessment

Emil Błazik, Magdalena Durlik

Klinika Medycyny Transplantacyjnej i Nefrologii Instytutu Transplantologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Warszawa, Polska

Summary: Liver diseases which lead to hepatic dysfunction due to fibrosis constitute a major problem of modern hepatology. Fibrosis can be precipitated by infections, autoimmune reactions, poisonous and radioactive substances. Regenerative pathways are initially activated, but unrelenting exposure to harmful stimuli modifies proper healing, results in over-accumulation of extra-cellular matrix (ECM), due to both, continuous excessive synthesis of ECM components and lowered activity of proteolytic enzymes – metalloproteinases (MMPs). Overall remodeling of the liver depends on activation of hepatic stellate cells and their differentiation into α -SMA fibroblasts. This process is controlled by many cytokines secreted by monocytes and fibroblasts *per se*. Once started, fibrosis becomes irreversible, it can only be followed up as to its further progression. Liver biopsy remains a gold standard in evaluation of fibrosis, however at cost of sporadic serious complications, such as bleeding, pain or death. Organ/biopsy specimen disproportion, focal nature of fibrosis, interpersonal variability of evaluation by pathologists may result in inconsistency of biopsy results. Several fibrosis scoring systems have been developed to standardize interpretation of biopsy. Nevertheless, biopsy complications compel the search for non-invasive markers of fibrosis. Currently available assessment indexes account for direct and indirect markers. However, the accuracy of indirect scoring systems is insufficient. Therefore, other proteins/peptides are being tested as candidate markers in diagnostic panels, i.e. N-terminal peptide of III-pro-collagen and collagen type IV, MMP2, tissue inhibitor of metalloproteinases 1. Visualization techniques as ultrasound or MRI elastometry are currently studied as alternative fibrosis evaluation tools, with some success.

Słowa kluczowe: włóknienie wątroby • komórki gwiaździste wątroby • nieinwazyjne markery

Key words: liver fibrosis • hepatic stellate cells • noninvasive markers

Adres do korespondencji: Emil Błazik Klinika Medycyny Transplantacyjnej i Nefrologii Instytutu Transplantologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Nowogrodzka 59, 02-006 Warszawa, Polska, e-mail: pinijo@o2.pl

Schorzenia powodujące uszkodzenie wątroby są jednym istotnych problemów współczesnej medycyny, ze względu na dużą częstość występowania, jak i nieskuteczność leczenia oraz niedostateczną profilaktykę. Zaistnienie czynnika uszkadzającego niezależnie od etiologii, może doprowadzić do trwałego pogłębiającego się uszkodzenia narządu, ostatecznie do przebudowy marskiej. Osiągnięciem współczesnej medycyny transplantacyjnej jest leczenie niewydolności wątroby metodą przeszczepienia tego narządu. Transplantacja wątroby w większości przypadków jest jedynie leczeniem objawowym, a nie przyczynowym, stąd to postępowanie nie prowadzi do pełnego wyzdrowienia pacjenta. Niektóre czynniki sprawcze nawracają w przeszczepionym narządzie, a zwłaszcza zakażenia wirusowe HCV, HBV, choroby autoimmunologiczne.

W grupie pacjentów po przeszczepieniu wątroby marskość rozwija się szybciej niż w wątrobie własnej, na przykład w przypadku nawrotu HCV jest to okres kilku lat. Ciekawym zarówno pod względem terapeutycznym jak i prognostycznym jest fakt, iż włóknienie nie rozwija się u wszystkich jednakowo, pomimo jak się wydaje, identycznych procesów prowadzących do niego. Z tego powodu chorzy po przeszczepieniu powinni być stale monitorowani w kierunku rozwoju włóknienia. W chwili obecnej służy temu regularne wykonywanie biopsji przeszczepu z oceną histopatologiczną.

Włóknienie to stałe, nadmierne odkładanie się składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) oraz zmian proporcji jej elementów, prowadzące do przerostu, twardnienia

i bliznowacenia tkanek [1,2]. Do czynników, które mogą wywoływać taką nieprawidłową reakcję organizmu należą przewlekłe infekcje wirusowe, bakteryjne, grzybicze także niektóre wielokomórkowe parazyty, duże znaczenie mają również reakcje autoimmunologiczne, substancji toksycznych i promieniotwórcze [2]. Proces naprawczy rozpoczynający się w momencie zadziałania któregoś z powyższych czynników chorobotwórczych można podzielić na dwie fazy – regeneracyjną, w trakcie której dochodzi do zastępowania uszkodzonych komórek nowymi, zdrowymi oraz włóknieniem wówczas gdy dochodzi do odtworzenia tkanki łącznej [2]. Problem rozpoczyna się, kiedy proces ponownego produkowania macierzy zewnątrzkomórkowej przestaje być podatny na działania mechanizmów kontrolnych.

Wątroba składa się z elementów komórkowych takich jak hepatocyty, komórki zatokowe (SECs), komórki gwiaździste (HSC), fibroblasty, histocyty, komórki tłuszczne oraz ze składowych macierzy łącznotkankowej tj. kolagenów, glikoprotein np.: fibronektyny, entaktyny itp. Tkanka łączna buduje sieć przestrzenną, w której mogą istnieć struktury tworzone przez komórki. Najważniejszymi elementami są hepatocyty, które układają się w beleczki otoczone pierwotnymi przewodami żółciowymi i naczyniami włosowatymi zwanymi tu zatokowymi (sinusoidalnymi). Nabłonek wyściełający naczynia krwionośne nie przylega bezpośrednio do powierzchni komórki wątrobowej – zdrowe hepatocyty na swojej powierzchni posiadają niewielkie kosmki, istniejąca tam przestrzeń zwana jest przestrzenią Dissego. [3] W tym właśnie miejscu znajdują się komórki gwiaździste (HSC), rolą których w fazie homeostazy jest magazynowanie witaminy A, synteza de-sminy, jako komórki prezentujące obce antygeny posiadają one zdolność fagocytozy, na powierzchni błony komórkowej obecne są receptory prezentujące antygeny klasy II (MCH II), inne ważne struktury białkowe na błonie to receptory kompleksu LPS – TRL 4 i CD14 [4].

W odpowiedzi na zadziałanie czynnika uszkadzającego mięsz w wątroby, a konsekwencji martwicy hepatocytów, dochodzi do infiltracji przez komórki jednojądrzaste układu odpornościowego takie jak monocyty, limfocyty. Syntezowane przez nie cytokiny takie jak transformujący czynnik wzrostu β (TGF β), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) prowadzą do aktywacji komórek gwiaździstych, usunięcia z cytoplazmy ziarnistości z witaminą A, rozpoczyna się synteza białka α SMA, pojawia się możliwość aktywnego przemieszczania się. W ten sposób organizm otrzymuje dużą ilość „komórek efektorowych” procesu naprawczego – miofibroblastów. Dotychczas sądzono, że są to wyłącznie komórki pochodzące z tkanki w obrębie której zachodzi włóknienie, obecnie wiemy już, że w procesie tym biorą udział komórki z innych tkanek i narządów, których fenotyp pod wpływem różnych, częściowo już poznanych czynników ulega przemianie. Należą do nich fibrocyty, podobne do fibroblastów, krążące we krwi obwodowej, komórki pochodzą ze szpiku i stanowią znaczącą część miofibroblastów. [2,5] Inne źródła odnaleziono pośród komórek epitelialnych i endotelialnych, powstają one w trakcie tzw. przemiany epitelialno/endotelialno-mezenchymalnej (EMT i EndMT). [6] Ta hipoteza została potwierdzona szeregiem badań, w tym na niedużej grupie siedmiu mężczyzn po przeszczepieniu wątroby którzy otrzymali narząd od dawców płci żeńskiej i kobiecie po przeszczepieniu szpiku od dawcy płci męskiej u której rozwinęła się marskość w przebiegu zakażenia HCV. Dokładna ocena histopatologiczna i histochemiczna biopatów wątroby wykazała obecność

chromosomów Y u 6,8–22,2% miofibroblastów u pacjentów po przeszczepieniu narządu mięszowego i 12,8% w wątrobie własnej pacjenta po przeszczepieniu szpiku. [7]

Czynniki aktywujące fibroblasty są różnorodne. Jedne zależą od cytokin zapalnych takich jak TGF β , IL13 wydzielanych przez liczne w uszkodzonej wątrobie limfocyty.

Inne związane są z pobudzeniem układu wzorców molekularnych związanych patogenów (PAMP) poprzez receptory Toll podobne (TLRs) obecne na fibroblastach.

Jedną z ważniejszych cytokin w procesie włóknienia jest transformujący czynnik wzrostu β (TGF β), syntezowany min. przez makrofagi i pobudzone miofibroblasty. [2,4,5] Nasilenie syntezy tego białka kontrolowane jest przez interleukinę 13 (IL13). Nieaktywny TGF β pozostaje zmagazynowany w komórkach pod postacią homodimerów powiązanych mostkami siarczkowymi i dodatkowo połączono przy pomocy wiązań niekowalencyjnych z białkiem LAP. Pod wpływem różnorodnych cytokin takich jak metaloproteinazy, katepsyna, plazmina dochodzi do odłączenia białka LAP. Uwolniony TGF β przyłączając się do receptora na komórkach efektorowych poprzez białka Smad uruchamia proces syntezy prokalgenu I i III w SMA-fibroblastach, równocześnie nasila syntezę innych białek biorących udział w procesie naprawy/włóknienia np. inhibitorów metaloproteinazy [2,5]. Dysproporcja pomiędzy ilością aktywnych proteinaz a ich tkankowymi inhibitorami jest tym czynnikiem, który bezpośrednio odpowiada za odkładanie się dodatkowej ilości składowych macierzy zewnątrzkomórkowej.

Inhibitory kalcineuryny taki jak cyklosporyna A (CsA) i takrolimus (FK) są podstawowymi lekami immunosupresyjnymi po przeszczepieniu narządów, w tym wątroby. Jednym z efektów ubocznych stosowania CsA opisywanym w licznych publikacjach głównie dotyczących pacjentów po przeszczepieniu nerek jest nasilenie ekspresji mRNA TGF β oraz zwiększona synteza tego polipeptydu [8,9]. Podejrzewając istotność tego właśnie mechanizmu w przyspieszonym włóknieniu w narządach przeszczepionych, sprawdzono w badaniach na ludziach, czy rzeczywiście istnieje różnica w poziomie TGF β pomiędzy grupą pacjentów leczonych cyklosporyną, takrolimusem i chorych z zaawansowanym włóknieniem w wątrobie własnej. Badacze nie postrzegli jednak takiej zależności [10].

Układ wzorców molekularnych związanych patogenów jest jednym z ważniejszych elementów odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw bakteriom, grzybom, wirusom i parazytom. Komórki większości tkanek organizmu posiadają TLR. W zależności od klasy receptorów część z nich znajduje się na błonie komórkowej np. TLR 1, 2, 4, 5, 6, inne jak TLR 3, 7, 8, 9 obecne są w cytoplazmie. Pobudzenie powoduje aktywację genów i syntezę różnorodnych cytokin. W wątrobie komórki gwiaździste w odpowiedzi na stymulację TLR 4 zwiększają produkcję chemokin, cząsteczek adhezyjnych, w ten sposób modyfikując odpowiedź immunologiczną, a także poprzez syntezę endogennego TGF β nasilają włóknienie [6]. Badania na modelach zwierzęcym wykazały istotnie zmniejszone włóknienie wówczas, gdy komórki gwiaździste miały wyłączoną ekspresję genów TLR4.

Przedstawione dane wskazują, jak bardzo skomplikowane i w dalszym ciągu nie do końca jasne są procesy związane z rozwojem włóknienia.



W dalszej części przedstawione zostaną próby prognozowania postępu patologicznej reakcji organizmu w wątrobie.

Za „złoty standard” oceny procesu włóknienia w wątrobie uważa się biopsję gruboigłową. W okresie zabiegu choroby musi być hospitalizowany, gdyż niesie on ze sobą możliwości wystąpienia powikłań, takich jak krwawienie, odma opłucnowa, a nawet zgon. Obróbka pobranego materiału jest czasochłonna i kosztowna. Niedoskonałość metody oceny patomorfologicznej jest związana z wieloma czynnikami. Włóknienie w wątrobie jest procesem obejmującym cały narząd, jednak jego nasilenie miejscowe jest różnicowane, tak więc możemy mieć do czynienia z tzw. „błędem próbki” [11]. Histopatolog musi mieć odpowiednio duże doświadczenie i umiejętności, aby dokonać poprawnej oceny obrazu mikroskopowego. Możliwa jest różna interpretacja tego samego wycinka zarówno przez kilku patologów jak i przez samego patologa. Zakłada się, iż skala tego zjawiska może sięgać nawet 20–30% [11]. Do tej pory opracowano już kilka algorytmów oceny histopatologicznej wątroby są to skala METAVIR, Ishaka, Konodell’a i inne [12,13]. Wszystkie opierają się na ocenie punktowej, badane są zmiany o charakterze jakościowym. Jedną z częściej wykorzystywanych jest skala METAVIR. Została stworzona przez grono 10 doświadczonych francuskich histopatologów. Skala ocenia oddzielnie aktywność zmian histologicznych (A 0–3) i zawansowanie włóknienia (F 0–4). [13] Prowadzone są próby oceny wycinków przy użyciu mikroskopu sprzężonego z komputerem, jednak ta metoda wymaga specjalnych barwień preparatów, powoduje generowanie wysokich kosztów sprzętu i oprogramowania.

Obecnie prowadzone są próby opracowania panelu nieinwazyjnych markerów, przy pomocy których można by ocenić postępu włóknienia. Poszukiwana substancja/-je muszą charakteryzować się wysoką specyficznością dla wątroby, mieć znany czas trwania w organizmie, być czułym w stosunku do fibrylizacji i syntezy składowych ECM, dającym powtarzalne wyniki, tani i łatwy do oznaczenia. Problemy, które napotyka badacze wynikają z faktu, iż znalezione do tej pory białka, glikoproteiny spełniają tylko część z tych warunków.

Dotychczas powstało już kilka algorytmów wykorzystujących różnorodne, częściowo wchodzące w rutynowe oznaczenia markery.

Fibrotest stworzony na podstawie wielośrodkowego badania we Francji, wykorzystuje pomiary stężeń we krwi α 2 makroglobuliny, haptoglobiny, γ GT, bilirubiny i apolipoproteiny A1. Korelowano wyniki biochemiczne we krwi z oceną histopatologiczną wycinków wątroby posługując się skalą METAVIR. Opracowany algorytm jest obecnie licencjonowany przez BioPredictive. Przedział skali mieści się od 0,0 do 1,0. Praca oryginalna obejmowała 339 pacjentów. Prawdopodobieństwo wykluczenia istotnego klinicznie włóknienia u chorych z wartościami FibroTestu $<0,2$ wynosiło 100%. Uzyskanie wartości $>0,6$ wiązało się z dużym prawdopodobieństwem występowania znacznego włóknienia, (PPV) wynosiło ponad 90% [14]

Innym panelem diagnostycznym jest skala Frons’s. W badaniu na 476 osobowej grupie pacjentów przewlekle zakażonych wirusem C, Frons i wsp. zebrali różne dane kliniczne, laboratoryjne i epidemiologiczne. Wykazano znamienność statystyczną takich parametrów jak wiek, poziomy

γ -glutamylotranspeptydazy (GGT), wartość cholesterolu oraz liczba płytek. Opracowano model statystyczny:

$$7.811-3.131.\ln(\text{liczba płytek}\cdot 10^9) + 0.781.\ln(\text{GGT IU/dl}) + 3.467.\ln(\text{wiek}) - 0.014(\text{cholesterol}[\text{mg/dl}]) \quad [15]$$

wartość pola pod krzywą ROC wynosiła 0,81. Dla ułatwienia korzystania z modelu wyznaczono rozpiętość wartości indexu od 0 do 10. Wyznaczono punkty odcięcia dla małego (AUC $<4,21$) i dużego (AUC $>6,9$) prawdopodobieństwa występowania znaczącego włóknienia lub marskości. Uzyskane wartości czułości (S), specyficzności (Sp) PPV, NPV wynoszą odpowiednio dla AUC $<4,2 - S 0,94, Sp 0,51, PPV 0,4; NPV 0,96$ a dla AUC $<6,9 S 0,3; Sp 0,95; PPV 0,66; NPV 0,8^2$. [16]

APRI index, w którym wykorzystuje się stosunek transaminazy asparaginianowej do liczby płytek. Wai i wsp. w swoim badaniu na grupie 572 pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C wykazali istotną statystycznie korelację pomiędzy AST oraz pytkami a marskością wątroby. Badacze opracowali oparty na wartościach transaminazy asparaginowej i liczby płytek wzór:

$$\text{APRI} = \text{AST (UI/l)} / \text{liczba płytek (} 10^9/\text{l)} \times 100$$

którego wartości jeszcze lepiej korelowały ze znacznego stopnia włóknieniem wątroby oraz marskością. Indeks ten nie pozwala jednak różnicować pacjentów we wczesnych fazach włóknienia. [17]

FIB-4 to kolejny panel diagnostyczny zbudowany w oparciu o niebezpośrednie markery procesu włóknienia. Został stworzony na podstawie danych 505-osobowej grupy pacjentów zakażonych HCV i HIV, którzy brali udział w wielośrodkowym badaniu HAART. Materiał histopatologiczny był poddany ocenie wg skali Ishacka. Pacjenci zostali podzieleni ze względu na zaawansowanie włóknienia na trzy grupy, pierwszą z G 0–1, drugą z G 2–3 i trzecią z G 4–6 Badacze pod przewodnictwem R. K. Sterlinga dokonali retrospektywnej analizy danych pochodzących z momentu włączenia do badania. Przy użyciu regresji logistycznej wykazano znamienność statystyczną takich czynników jak wiek, wartości transaminazy asparaginowej i alaninowej oraz liczba płytek. W oparciu o te zmienne skonstruowano algorytm:

$$\text{FIB-4} = \text{wiek} \times \text{AST (U/L)} / \text{liczba płytek} \times (\text{ALT (U/L)})^{1/2} \quad [15].$$

Dla uproszczenia ustalono skalę od 0 do 10. Oznaczono dwa punkty odcięcia na krzywej ROC o wartości 1,45 i 3,75, które pozwalają ocenić możliwość wystąpienia zaawansowanego włóknienia. Dla wartości $<1,45$ prawdopodobieństwo wykluczające (NPV) wystąpienie zaawansowania włóknienia wg. Ishacka 4–6 wynosiła 89–90%, a dla AUC 3.25 prawdopodobieństwo potwierdzające (PPV) zaawansowane włóknienie wynosiło 65% [18].

FiboIndex opracowany przez Koda i wsp. algorytm oparty jest na takich zmiennych jak liczba płytek, wartość AST i gamma globulina opisany wzorem:

$$1.738-0.064 (\text{liczba płytek} \times 10^4/\text{mm}^3) + 0.005 (\text{AST IU/l}) + 0.463 (\text{g-globulina [g/dl]}).$$

Badaniem objęto 360 pacjentów, wyliczono wartości punktu odcięcia AUC dla dużego prawdopodobieństwa

wystąpienia znacznego włóknienia na poziomie 0,83. Prawdopodobieństwo potwierdzające wystąpienie znaczącego włóknienia przy wartości AUC >2,25 wynosiło 94,6%. Test jednak dużo gorzej wyklucza możliwość wystąpienia zaawansowanego włóknienia NPV dla wartości Indeksu <2,25 wносиła jedynie 64,2%. Autorzy wnioskowali, iż stosując ten system oceny włóknienia można zredukować aż o jedną trzecią liczbę biopsji wątroby. [19]

Część badaczy mając na uwadze dynamikę procesów zachodzących w trakcie nadmiernego odkładania się macierzy zewnątrzkomórkowej, stała aktywność miofibroblastów pod postacią syntezy kolagenu, powstawanie w dużej ilości produktów ubocznych tego procesu wyszła z założenia, iż należy spróbować odnaleźć markery charakterystyczne dla tych procesów. W trakcie licznych badań podstawowych wytypowano między innymi: PIIINP – aminokońcowy peptyd prokolagenu III oraz kolagen typ IV będące produktami ubocznymi procesu tworzenia kolagenu oraz MMP2 – metaloproteinaza 2, tkankowy inhibitor metaloproteinaz 1 (TIMP1) jako jedne z licznych enzymów biorących bezpośredni udział w procesie przebudowy tkanki łącznej [15,20].

Guechot i wsp. w pracy nad 392 pacjentach przewlekłe zakażonych HCV, wykazali znamienne statystycznie różnice wartości HA i PIIINP w tych surowicach, których pacjentów biopsja wątroby wykazywała znacznego stopnia włóknienie (F3–F4), w porównaniu z grupą o małym lub znikomym włóknieniu (F0–F1). Autorzy stwierdzili również większą przydatność HA w porównaniu z PIIINP w wykrywaniu znacznego włóknienia w porównaniu do grupy z miernym lub nieobecnym włóknieniem (AUC 0,846 vs. 0,691, P<0,001). Podobne obserwacje poczyniono w grupach pacjentów z marskością i bez niej (AUC 0,924 vs 0,734 P<0,001). [21]

Przydatność TIMP 1 i MMP 2 próbował między innymi stwierdzić K. Ch. Boeker, w badaniu na 59 chorych z przewlekłym HCV i 30 zdrowych ochotnikach, w którym wykazał istotne statystycznie wyższe poziomy białek w populacji chorych. Potwierdził przydatność MMP2 do wykrywania marskości (czułość 74% specyficzność 96%) oraz TIMP 1 (czułość 100% specyficzność 57–75%). Jeśli chodzi o włóknienie jedynie TIMP1 okazał się przydatny (czułość 68% specyficzność 88%). [22]

Inni badacze łączyli grupy markerów bezpośrednich. Leroy w swoim badaniu obejmującym 194 osoby porównywał użyteczność takich substancji jak HA, PIIINP, TIMP1, TIMP2, MMP2, MMP9. Wykazano znamienne statystycznie różnice poziomów PIIINP, TIMP1 TIMP2 i HA między grupą kontrolną a badaną. W ostatecznej analizie statystycznej wyników jedynie PIIINP i MMP1 okazały się przydatne do oceny włóknienia.

Opracowaną skalę nazwano MP3. Na podstawie uzyskanych tam wyników skonstruowano model statystyczny:

$$0.5903 \text{ Log PIIINP (ng/ml)} - 0.1749 \text{ MMP1 (ng/ml)}$$

Wartość pola pod krzywą ROC wynosiło 0,82 dla zaawansowanego włóknienia. Dla wartości AUC <0,2 niewystępowanie znacznego włóknienia można przewidzieć z dość dużą dokładnością (NPV 88%), przy AUC >0,4 prawdopodobieństwo wystąpienia (PPV) znamiennego włóknienia jest równe duże i wynosi 91% [23].

Wszystkie powyższe panele diagnostyczne posiadają istotną niedoskonałość, otóż pozwalając różnicować pacjentów z istotnym klinicznie włóknieniem spośród całej populacji chorych z uszkodzeniem wątroby. Ich przydatność do wykrywania nadmiernego odkładania się składowych tkanki łącznej nie jest zbyt duża. Kolejnym problemem jest to, iż panele były tworzone w oparciu o różne skale histopatologiczne tj. METAVIR, Knodell'a, Ishack'a.

Podjęto też próby wykorzystania technik radiologicznego obrazowania jako wspomagających monitorowanie procesu włóknienia. Ma to jeszcze bardziej uprościć i skrócić czas pobytu w oddziale. Już obecnie pośrednio poprzez ocenę wielkości, echogeniczności, a także mierząc przepływ przez naczynia wątrobowe próbujemy wspomagać się metodą USG przy ocenie zaawansowania włóknienia.

Mając do dyspozycji tomografię komputerową z możliwością oceny naczyń krwionośnych oraz rezonans magnetyczny przeprowadzono badania, w których starano się dowieść użyteczności tych urządzeń. Jednak znaczące zmiany w unaczynieniu pojawiają się w zaawansowanym stadium choroby wątroby, tym samym nie udowodniono przydatności klinicznej owych badań przy niewielkim nasileniu włóknienia.

Ostatnio pojawiły się doniesienia o elastometrii USG jako badaniu, które może mieć istotne znaczenie w diagnostyce włóknienia. Zaletą badania jest jego prostota, szybkość wykonania- całość trwa około 5 min. Głowica użyta do badania wytwarza ultradźwięki o małej częstotliwości i średniej amplitudzie takie fale przechodząc przez tkankę powodują powstawanie fal wtórnych, szybkość rozchodzenia się tych fal jest wprost proporcjonalna do sztywności tkanki, w której pojawiają się. Specjalnie zaprojektowana głowica potrafi zmierzyć szybkość fal odbitych i na podstawie tego wyznaczone jest włóknienie wątroby. [24,25]

W wieloosrodkowym badaniu przeprowadzonym we Francji na grupie 327 pacjentów z HCV znaleziono istotne statystycznie zależności między wartościami pomiarów przy użyciu elastografii a włóknieniem w obrazie histopatologicznym, jednak dopiero od fazy F2 wg METAVIR. Pole pod krzywą ROC dla F>2 wynosiło 0,79, dla F>3 0,91 a dla F=4 0,97. Wartości sztywności (wyrażane tu w kPa) dla takiego włóknienia określono na poziomie odpowiednio 8,8; 9,6 i 14,6 kPa [25].

Podjęto również próby wykorzystania rezonansu magnetycznego do oceny zaawansowania procesu włóknienia. Metodologia opiera się na zjawisku powstawania fal odbitych w ośrodku o niejednorodnej strukturze. Na podstawie wartości ciśnień powstających w wątrobie podczas przechodzenia przez prawy płat wątroby podłużnej fali o częstotliwości 65 Hz jest oznaczana mapa elastyczności i włóknistości. Huwart i wsp. poddali badaniu 25 pacjentów, którzy mieli wykonaną biopsję wątroby, zdecydowana większość chorowała na zapalenie wątroby typu C. Biopsaty były oceniane pod kątem włóknienia z przy użyciu skali METAVIR. W badaniu wykazano istotą statystycznie różnicę w elastyczności i włóknistości pomiędzy pacjentami z F0–F1 i F2–F3, F2–F3 i F4, co ciekawe nie znaleziono znamienne statystycznej różnicy we włóknistości pomiędzy grupą z F0–F1 a F4 [26].

Procesy włóknienia w wątrobie są na tyle dynamicznymi zjawiskami, że posługiwanie się tylko i wyłącznie obrazem histopatologicznym, przy obecnym stanie wiedzy, nie ułatwia



postępowania klinicznego. Dotychczasowe próby zastąpienia oceny histopatologicznej pobranych w trakcie biopsji wątroby innymi mniej inwazyjnymi metodami na razie nie przyniosły zadowalających rezultatów. Część badaczy wychodzi z założenia, że serologiczne markery włóknienia wątroby mogą

być bardziej użyteczne do monitorowania postępu choroby jednak konieczna jest wstępna ocena histopatologiczna. Doniesienia o metodach radiologicznych są nadal traktowane jak faza wstępna. Prace nad udoskonalaniem diagnostyki nieinwazyjnej w dalszym ciągu trwają.

Piśmiennictwo:

1. Kruś S: Patomorfologia kliniczna – podręcznik dla studentów. 2007; wydanie 3 uaktualnione i rozszerzone
2. Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M: Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchylam transition. *Human Pathology*, 2009; 40: 1365–76
3. Sawicki W: *Histologia*, 2008; wydanie 5 poprawione
4. Wynn TA: Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*, 2008; 214(18): 199–210
5. Rygiel KA, Robertson H, Marshall HL i wsp.: Epithelial-mesenchymal transition contributes to portal tract fibrogenesis during human chronic liver disease. *Lab Investigation*, 2008; 88: 112–23
6. Testro AG, Visvanathan K: Toll-like receptors and their role in gastrointestinal disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009; 24: 943–54
7. Forbes SJ, Francesco RP, Rey V i wsp.: A significant proportion of myofibroblasts are bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology*, 2004; 126: 955–63
8. Khanna AK, Hosenpud JS, Plummer MS i wsp.: Analysis of transforming growth factor- β and profibrogenic molecules in a rat cardiac allograft model treated with cyclosporine. *Transplantation*, 2002; 73: 1543–49
9. Vieira JM Jr, Noronha IL, Malheiros DM i wsp.: Cyclosporini-induced interstitial fibrosis and alteriolar TGF- β expression with preserved renal blood flow. *Transplantation*, 1999; 68: 1746–53
10. Cisneros L, Londono MC, Biasco C i wsp.: Hepatic stellate cell activation in liver transplant patients with hepatitis C recurrence and in non-transplanted patient with chronic hepatitis C. *Liver Transplantation*, 2007; 13(7): 1017–27
11. Bedossa P, Dargere D, Paradis V: Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2003; 38: 1449–57
12. Ishak K, Baptista A, Bianchi L i wsp.: Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*, 1995; 22: 696–99
13. Bedossa P, Poinard T: An algorithm fro the grading of activity in chronic hepatitis C. 1996;24: 289–93
14. Imbert-Bismut F, Ratizu V, Pieroni L i wsp.: Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: prospective study. *Lancet*, 2001; 357: 1069–75
15. Aita JS, Harrison S.A.: Liver biopsy versus noninvasive testing in chronic hepatitis C: Where do we stand in 2008?; *Hep C: Current and Future Therapy*
16. Frons X, Ampurdanes S, Liovet JM i wsp.: Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*, 2002; 36: 986–96
17. Chun-Tao Wai, JK Greenon, RJ Fontana i wsp.: A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2003; 38: 518–26
18. Streling RK, Lissen E, Clumeck N i wsp.: Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patient with HIV/HCV co-infection. *Hepatology*, 2006; 43: 1317–25
19. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M i wsp.: FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2007; 45: 297–306
20. Bataller R, Brenner DA: Liver Fibrosis. *Journ Clin Invest*, 2005; 115: 209–18
21. Guechot J, Laudat A, Loria A i wsp.: Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clinical Chemistry*, 1996; 42(4): 558–63
22. Boeker KHW, Haberkorn CI, Micgels D i wsp.: Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Cinica Chimica Acta*, 2002; 316: 71–81
23. Leroy V, Monier F, Bottari S i wsp.: Circulating matrix metalloproteinase's 1,2,9, and their inhibitors TIMP 1 and TIMP 2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am. J Gastroenterology*, 2004; 99: 271–79
24. Ganne-Carrie N, Ziol M, de Ledinghen V i wsp.: Accuracy of liver stiffness measurement for the diagnosis of cirrhosis in patients with chronic liver diseases. *Hepatology*, 2006; 44: 1511–17
25. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A i wsp.: Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2005; 45: 48–54
26. Huwart L, Peeters F, Sinkus R i wsp.: Liver fibrosis: non-invasive assessment with MR elastography. *NMI in Biomedicine*, 2006; 19: 173–79