

儿童肝纤维化的现代诊断方法

MODERN METHODS FOR DIAGNOSTICS OF LIVER FIBROSIS IN CHILDREN

© N.A. Efremova¹, L.G. Goryacheva^{1,2}, I.A. Karabak¹

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia;

² St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Efremova NA, Goryacheva LG, Karabak IA. Modern methods for diagnostics of liver fibrosis in children. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2020;11(4):43-54. <https://doi.org/10.17816/PED11443-54>

Received: 12.06.2020

Revised: 15.07.2020

Accepted: 26.08.2020

这篇综述致力于诊断儿童肝纤维化的现代方法。本文介绍了肝脏穿刺活检的各种类型。在组织活检形态学分析中使用免疫组织化学方法,可以使我们进一步了解慢性肝病的发病机制,以及伴随感染因子在疾病进展和结果中的作用。这篇文章反映了可视化纤维化的仪器方法及其诊断意义的评估。超声是仪器研究中的筛选方法。计算机断层扫描和磁共振成像是疑似纤维化的必要成像方法,但它们不允许验证其阶段。介绍了各种弹性成像方法的优缺点。有前途的纤维化诊断领域与闪烁造影和声学结构定量分析有关。综述的重点是用于评估儿童肝纤维化分期的血清标志物,关于单个纤维化标志物的作用的数据,如透明质酸,IV型胶原,β1转化生长因子,以及APRI、FIB-4、和FibroTest在儿童中的指标。需要进一步研究纤维发生的致病方面,寻找新的非侵入性技术来鉴别肝纤维化中期阶段和制定其预后标准。

关键词: 肝纤维化; 儿童; 弹性成像; 非侵入性纤维化标志物; 纤维化标志物的诊断价值。

This review is dedicated to nowadays methods of liver fibrosis diagnostic in children. The article presents various types of puncture biopsy of the liver. Implementation of the immunohistochemical method in the morphological analysis of biopsy samples allows us to expand our understanding of the pathogenesis of chronic liver diseases, the role of the concomitant infectious agent in the progression of the disease and its outcomes. Instrumental methods for visualizing fibrosis with an assessment of their diagnostic significance are observed in the article. Ultrasound is a screening method among instrumental examination. Computed and magnetic resonance imaging are obligate imaging methods for suspected fibrosis, but they do not allow to verify its stage. The advantages and disadvantages of various types of elastography are presented. Promising directions of fibrosis diagnostics are associated with scintigraphy, acoustic structural quantitative analysis. Special attention is paid to serum markers for assessing the stage of liver fibrosis in children; data about the role of several fibrosis markers, such as hyaluronic acid, type IV collagen, transforming growth factor β1, as well as APRI, FIB-4, FibroTest indices in children are presented. Further study of the pathogenetic aspects of fibrogenesis, exploration of new non-invasive techniques for differentiation the intermediate stages of liver fibrosis, and the development of its prognostic criteria are required.

Keywords: liver fibrosis; children; elastography; non-invasive markers of fibrosis; diagnostic value of markers of fibrosis.

绪论

肝纤维化(LF)是一个动态过程,是肝组织受损的结果,伴随着炎症细胞的调动,产生细胞间相互作用的介质,其可直接或间接激活星状细胞并使其转化为肌成纤维细胞,即纤维组织的主要生产者[20]。慢性肝病(CLD)在儿童中

仍然是一个极其紧迫的问题,由于其广泛,往往严重的病程,发展趋势和不良后果。由于儿童身体的高代偿能力,慢性肝病的病程在很长一段时间没有症状,肝纤维化通常被诊断为明显的阶段。肝硬化是纤维化的终末期,是世界第9大死亡原因,也是工作年龄人群第6大死亡

原因一每10万人中有14至30例[6]。乙型、丙型、丙型肝炎、肝脏自身免疫性疾病和代谢性疾病是肝纤维化形成的诱因。在一岁的儿童中,严重肝纤维化最常见的原因是胆道闭锁,胆道畸形。然而,肝纤维化的进展率各不相同,自身免疫性肝炎和肝豆状核变性(Wilson's disease, 分别为50和57.9%) 在患儿肝硬化形成率中居于首位[19]。病毒性肝炎患儿肝纤维化的形成要慢得多,但肝组织中活跃的炎症过程的维持、联合感染无疑是加速肝纤维化发展速度的因素。进行的研究表明,儿童肝纤维化的原因之一是疱疹性感染,它以单一或混合感染其他感染因子发生[2]。许多研究已经将细胞因子基因多态性标记的不同等位基因与慢性丙型肝炎(CHC)感染风险、肝纤维化的进展速度和对抗病毒治疗的反应联系起来。这些研究的作者指出了使用遗传标记作为疾病的病程和预后预测因子的可能性[3]。

肝纤维化的发病机制

不管损伤因素是什么,肝纤维化是一个级联的普遍反应,包括星状细胞的激活及其表型改变、内皮功能障碍、细胞外基质(ECM)成分的合成和利用失衡。证实了各种细胞因子和生长因子作为成纤维细胞功能活性的调节物质,其增殖和ECM组分的产生,以及损伤条件下实质、炎性细胞和肌成纤维细胞之间的相互作用。促炎细胞因子包括:白细胞介素(IL、IL4、IL6、IL8、IL13, TNF- α)和生长因子(血小板生长因子PDGF、结缔组织和纤维母细胞生长因子、转化生长因子TGF- β 1),以及生物活性物质(内皮素1、血管紧张素2、氧化

一氮、瘦蛋白)[7]。TGF- β 1和PDGF在星状细胞的激活中起主导作用[10]。激活的星状细胞转化为肌成纤维细胞,并开始产生ECM成分,以及一些增强单核细胞和趋化因子向损伤区迁移的趋化因子。IL10、IFN- α 、INF- γ 和肝细胞生长因子作为抗纤维化因子。在急性肝损伤中,纤维松解是通过基质金属蛋白酶(MMP)去除多余的ECM产物来实现的。在慢性肝组织损伤中,ECM成分的破坏由于MMP产生的抑制和活性的降低而减慢,由于激活组织抑制剂合成(TIMP)。由于肝纤维化的发生,I型、III型、IV型胶原、层粘连蛋白、蛋白多糖和其他ECM成分大量沉积于狄氏隙,进一步破坏结构,形成门静脉分流、门脉高压和严重肝纤维化。

了解肝纤维化的免疫发病机制及其进一步研究是开发抗纤维化治疗新里程碑的关键任务。肝纤维化的早期诊断允许及时开出抗病毒治疗处方,旨在降低其进展速度,防止肝硬化和肝细胞癌的发展。对临床医生来说,确定肝纤维化的分期和组织学活性指标是肝脏疾病的诊断、病理过程的预后和治疗方法的基础阶段。

诊断方法肝活组织检查

诊断肝纤维化最准确的方法仍然是肝穿刺活检(PLB),并对材料进行组织学检查。根据文献,对于各种慢性肝病的病理形态学特征,活检的体积并没有明确的要求。活检样本的标准体积为25毫米长,包含5个以上的门管区。然而,根据许多作者基于计算机生成的建模数据,在这些情况下估计样本的误差可以达到25%[5]。同时一次取2-3列材料

增加肝穿刺活检的信息含量显著增加并发症的风险,儿童的并发症风险是成人的数倍,达到3.3—4%[27,45]。对于有出血高风险、重型肝炎、大量腹水的患者,首选经静脉活检。这项技术可以让从不同的部位获得多达10个肝脏组织样本,但需要血管造影设备,并与心血管并发症有关。在儿科实践中,由于血管直径较小,很少采用经静脉入路[23]。在诊断病例中,腹腔镜活检是必要的,这不仅可以获得所需大小的活检,而且可以对腹部器官进行审计。腹腔镜控制下肝瓣膜的边缘切除可以减少因凝血障碍引起的并发症[32]。因此,选择最佳的肝穿刺活检方法是儿童慢性肝病诊断和治疗的重要问题之一。与此同时,足够容量的研究材料允许使用其他研究方法:免疫组化、病毒学、电子显微镜和形态测量。肝内点状的组织学检查包括光镜下的一系列切片分析[13]。为了确定活检标本中结缔组织的不同类型,以及相应的肝纤维化的严重程度,采用了特殊的染色方法。因此,对于胶原纤维的可视化,根据Van Gieson方法使用苦味毒染色,根据Mallory法的三色染色,根据HART法的弹力纤维品红染色,根据Unne-Tenzer法的地衣红染色;根据Foot法的浸渍银对网状纤维的染色[9,17]。

组织学活性的程度和纤维化的阶段的解释是基于特别开发的半定量尺度—Knodell, Ishak, METAVIR, Desmet[12]。目前广泛使用的是免疫组化染色方法,基于标记抗体在肝组织中检测抗原。基于CD68受体表达的免疫组织化学(IHC)可以显示Kupffer细胞;肌成纤维细胞和

平滑肌细胞可以被标记的聚合物与单克隆抗体的微球—平滑肌肌动蛋白(SMA)可视化。V.E. Karev和K.L. Reichelson的研究揭示了不同病因的肝炎中CD68⁺细胞表达TGF- β 1的强度和定位存在差异[14,15]。

免疫组织化学方法

免疫组化方法可以比常规组织学研究更客观地评估组织学变化,特别是在使用免疫组织形态学方法时(图1)。使用专门的形态测量程序允许一个客观的计算各种细胞群参与病理过程在肝脏。所得结果对研究慢性肝病的各种病因的发病机制具有重要价值[14]。

除了更可靠的可视化,I免疫组化方法还可以评估不同细胞群的功能状态,这在慢性肝病复杂的细胞间关系研究中非常重要。因此,图2显示了慢性丙型肝炎不同组织活性的星状肝细胞的不同形态。可见,这些细胞不仅在肝实质中绝对含量增加,而且以细胞面积增加的形式在形态上发生变化,这无疑反映了其功能状态的改变。

尽管形态学研究具有明显的优势,但人们应该记住肝脏病理过程的异质性。尸检材料的研究表明,盲法肝穿刺活检时,有10—30%的病例未检出肝硬化,有一项基于腹腔镜活检的研究发现,14.5%的病例仅发生在一个肝叶[5]。此外,应该记住形态学分析提供的是静态信息,不能让判断疾病的预后,因此在儿科实践中,肝穿刺活检很少被使用,只用于诊断病例,通常用于初级诊断,更倾向于无创诊断方法。

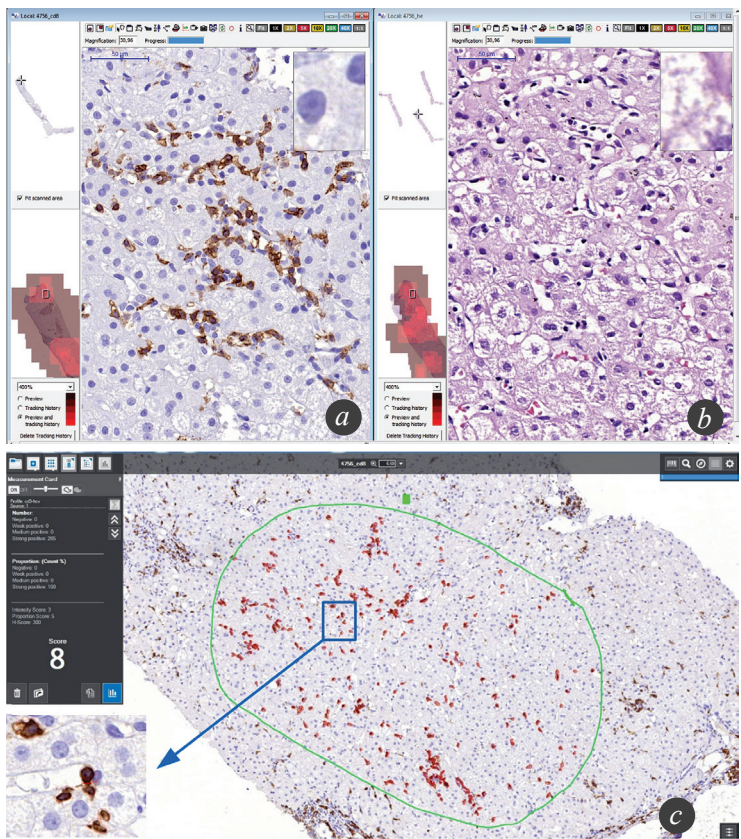


图. 1. 组织学、免疫组织化学和形态测量方法在肝纤维化研究中的应用说明：*a*—肝活检，小叶内淋巴细胞浸润，苏木精、伊红染色，增大×400倍；*b*—T淋巴细胞上CD8受体表达的同一肝活检部位的连续切片，免疫组化研究，DAB（棕色染色），增大×400倍；*c*—T淋巴细胞上CD8受体表达的同一肝活检部位的连续切片，免疫组化研究，DAB（棕色染色），（红线描出，在插图中增大×1000倍）选定感兴趣区域（绿线描出）

Fig. 1. An illustration of application of histological, immunohistochemical and morphometric methods in the study of liver fibrosis: *a* – Liver biopsy specimen with intralobular lymphocyte infiltration, hematoxylin and eosin staining, ×400; *b* – Serial section of the same biopsy specimen with expression of the CD8-receptor on T-lymphocytes, IHC, DAB (brown staining), ×400; *c* – Quant Center morphometric program, which calculates CD8-positive lymphocytes (outlined by the red line, on the inset, ×1000) in the selected area of interest (outlined by the green line)

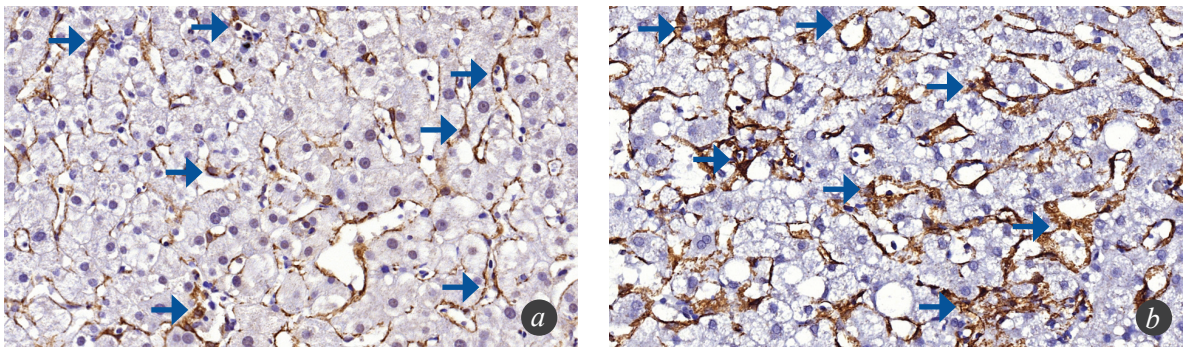


图. 2. 慢性肝炎组织中SMA-alfa阳性星状细胞的形态学变化：*a*—弱活化的SMA-alfa阳性星状细胞（箭头），慢性肝炎的低组织学活性；*b*—显著激活SMA-alfa阳性星状细胞（箭头），慢性肝炎的高组织学活性。免疫组织化学研究，DAB（棕色染色），增大×400倍

Fig. 2. Modulation of SMA-alfa positive stellate cells's morphology in liver tissue depending on histological activity of chronic hepatitis: *a* – mild activation of SMA-alfa positive stellate cells (arrows), low histological activity of chronic hepatitis; *b* – pronounced activation of SMA-alfa positive stellate cells (arrows), high histological activity of chronic hepatitis. IHC, DAB (brown staining), ×400

非侵入性成像技术

利用超声来观察慢性肝病（肝纤维化/肝硬化）的结构，由于缺乏禁忌症和广泛可用性，被广泛用作筛查。然而，由于许多疾病的早期超声图像相似，这种方法的特异性较低。在肝纤维化的诊断中，超声可以发现严重纤维化的间接征象，并跟踪疾病的进展。虽然肝纤维化初期可能伴以的超声图像无改变[4]。现代超声系统评估肝表面结节性，其回声结构和边缘（敏感性和特异性降低）。这三个指标的结合使肝硬化的诊断成为可能，其敏感性和特异性分别为86和95%[30]。作为附加参数，可以使用血管型的特征（血管纹萎缩、肝静脉、门静脉和脾静脉的大小）、脾肿大，作为门脉高压的间接征象。然而，根据P.R. Gibson等人[31]，门静脉直径可能并不总是作为门脉高压的标准。

多普勒显像是一种更可靠的评估门静脉高压的方法。然而，根据多普勒显像的结果很难区分纤维化的分期。超声、对比增强超声（CEUS）可以高效率地诊断成人和儿童肝肿瘤[42]。然而，该方法也可用于肝纤维化的评估。因此，基于HVAT指标（达到肝静脉造影的时间） ≥ 17 秒，诊断肝硬化的敏感性为100%，特异性为93%[37]。然而，CEUS没有足够的特异性来验证肝纤维化的分期[40]。

计算机断层扫描（CT）和磁共振成像（MRI）是更昂贵和技术更复杂的研究方法，特别是在幼儿中。这类患者的研究只能在麻醉下进行，这无疑增加了造影剂和辐射暴露带来的潜在风险，特别是在反复诊断过程中。

肝闪烁扫描术应用 ^{99m}Tc 是一种研究方法，可以测定肝细胞的吸收和排泄功能、器官的形状、胆管的通畅程度，包括胆汁淤积的发生[25]。研究表明，肝闪烁扫描术是一种评估肝硬化患者肝脏功能状态的信息丰富的方法，还可以让评估移植后门静脉高压的消退。然而，值得注意的是，肝显像的改变并不是严格的特异性的，因此不能使用这种方法来诊断肝纤维化的分期。

弹性成像是一种广泛应用的评估肝脏密度的方法，其可以显示组织的弹性特性。弹性成像有几种类型。压缩（静态）弹性成像（Real-Time Elastography — RTE）是一种定性评估组织弹性特性的方法，通过比较压缩前后的图像[44]。该方法的缺点是：无法获得定量评估，方法的灵敏度随深度降低，结果依赖于压缩的强度和方向，受试者的疼痛。

剪切波弹性成像（Shear Wave Elastography — SWE）包括以下方法：瞬时弹性成像（TE）、点式剪切波弹性成像（pSWE/ARFI）和二维剪切波弹性成像（2D-SWE）。

瞬时弹性成像（Transient Elastography — TE），或纤维弹性测量，是基于测量一个50赫兹机械振动的低频波在肝组织中传播的速度。结果以2.5到75KPa的千帕（KPa）表示，并允许区分F0到F4的肝纤维化分期。然而，TE也有一些局限性：肋间隙狭窄，腹水，高体重指数（肥胖），活动性肝炎，胆汁淤积，这些都可能扭曲研究结果[8]。许多研究已经确立了与肝穿刺活检相比，该方法对于儿童各种类型的肝脏损伤具有较高的价值[35,43]。

类似TE,当使用**点式剪切波弹性成像**(Acoustic Radiation Force Imaging — ARFI/pSWE)时,波浪穿过织物的速度是可以测量的,但波浪不是机械产生的,而是声学产生的,通过测量所需区域的深度,可以在二维空间中进行研究。对慢性肝病患者使用该方法的研究表明,与TE相比,该方法在评估严重肝纤维化方面具有更大的诊断价值。与瞬时弹性成像相比,ARFI具有更少的局限性。非炎症性活动对结果的影响目前正在讨论中。研究表明ARFI诊断准确率高,可与肝硬化中的TE相比[24,39]。

二维剪切波弹性成像(Shear Wave Elastography — 2D-SWE)不同于以往的技术,它能够根据肝脏的超声图像绘制评估部位。根据所得到的结果,可以形成一幅彩色地图,并将其叠加在常用的灰度信息(B模式)上。一项包含550名儿童和青少年的荟萃分析(12项研究)显示,2D-SWE在确定严重肝纤维化的分期方面是有效的,其敏感性为81%,特异性为91%[28]。

为了在儿科实践中确定肝脏的密度,使用了**磁共振弹性成像**,其原理是将超声通过肝脏组织的参数叠加在MR断层图上。这种方法的特点是成本高,研究时间长,需要在幼儿中使用麻醉[26]。尽管该方法具有较高的诊断意义,但肝纤维化分型的阈值尚未明确,需要进一步研究。

现代肝纤维化定量评估的方法包括**组织结构声学定量分析**(Acoustic Structure Quantification — ASQ),这是基于在B-模式超声肝组织均匀性的评估。ASQ的结果是基于传统单位的密

度指数进行颜色编码、直方图构建和肝纤维化分期的定量分析。该方法的特点不仅是能确定肝纤维化的分期,而且还能确定功能肝实质的体积和纤维化的严重程度。对获得的数据进行比较分析表明,该方法在纤维化最小和中等阶段(F1-2)和高阶段(F3-4)的儿童中具有良好的诊断价值。

肝纤维化的血清(生化)标志物。基于生化指标及其总体分析的无创肝纤维化评估方法,并结合仪器数据,可作为肝穿刺活检和仪器方法的替代方法。根据条件,血清标志物可分为反映细胞外基质状态及其形成和降解的直接标志物和间接反映肝脏炎症变化的间接标志物。直接标志物包括:透明质酸(HA)、III型前胶原、III型、IV型、VI型胶原、MMP、TIMP以及细胞因子和生长因子。间接标志物包括:血小板数量、丙氨酸转氨酶(ALT)、天门冬氨酸转氨酶(AST)浓度、总胆红素、胆汁郁积标志物(γ -谷氨酰转移酶—GGT、碱性磷酸酶—ALP)、白蛋白、 γ -球蛋白、胆固醇(CS)、凝血图的指标(凝血酶原时间—PT)、凝血酶原指数(PTI)、尿素、肌酐、急性期炎症蛋白(载脂蛋白A1—(APO-A1)、 α 1-抗胰蛋白酶、 α 2-巨球蛋白(A2-MG)、结合珠蛋白、C反应蛋白)等。

对儿童纤维形成过程的研究非常有限,主要与感染性肝炎有关。结果显示,HA具有100%特异性和低敏感性(46.4%),对慢性肝病主要病毒病因的儿童肝硬化的诊断具有预后价值[21]。不同慢性肝病患者透明质酸和IV型胶原的浓度与炎症活性及肝纤维化程度有显著相关性[16]。在新生儿肝炎患者中也

获得了透明质酸与肝纤维化分期和组织学活性相关性的数据,而IV型胶原、层黏蛋白和III型前胶原的水平无显著差异[38]。根据文献来源分析,对于MMP2、MMP9和TIMP1在儿童中的诊断作用,目前的数据比较矛盾,需要进一步研究[33,36]。基于急性炎症期的蛋白(CRP, APO-A1, A2-MG),有可能预测新生儿肝炎不良病程的风险,其结果为肝纤维化[1]。

大量研究显示TGF- β 1在移植后儿童慢性肝病(包括癌症)的各种病理形态中的作用,证实了其重要的诊断和预后价值。此外,有证据表明,活动性巨细胞病毒感染患者在肝移植后其浓度也有变化。然而,关于TGF- β 1与儿童肝病纤维化分期的相关性的数据却十分矛盾。慢性乙型肝炎、胆道闭锁和肝硬化患儿血清中该细胞因子的浓度与肝纤维化的分期无相关性[34]。相比之下,另一项研究描述了中度纤维化组儿童肝纤维化程度与TGF- β 1水平的关系,而轻度和重度纤维化组细胞因子的浓度较低[46]。

进一步研究TGF- β 1等纤维化直接标志物在儿童各种肝病中的作用,将更清楚地认识其诊断意义。

纤维化的指数

基于一系列的标记物,大量的血清面板/指标被开发出来以确定肝纤维化。最著名的基于间接标记的指标是AAR、APRI、Fib4、Forns、Fibroindex、GUCI、HALT-C%、MDA、PGA、FibroTest和FibroMax;直接标记是MP3、ELF test和一套直接和间接标记—Hepascore、SHASTA、FIBROSpect II、Fibrometer(见表)。

大多数是在检查成年慢性丙型肝炎患者时产生的,它们只能区分轻微纤维化和严重纤维化(超过F3-4)。

在上述指标中,只有FibroTest和FibroMax指数(BioPredictive,法国)可以根据分期对肝纤维化进行高精度鉴别。FibroTest指数可以确定肝纤维化的阶段,以及坏死性炎症活动的程度。FibroMax指数(FibroTest、ActiTest、SteatoTest、AshTest、Nashtest)包括评估脂肪变性,酒精和非酒精性肝损害的附加算法。研究表明,即使在肝纤维化的早期,FibroTest也是一种敏感、特异性高的方法,但由于成本高,不能广泛应用于常规实践。

对儿童血清标记的诊断价值的比较分析,以及个体标记,也显示了相互矛盾的数据。例如,墨西哥研究人员检查了68名患有不同慢性肝病的儿童,发现FibroTest(分别为80%和88%)和APRI(分别为88%和100%)的高敏感性和特异性仅用于区分F0和严重纤维化(F3-4),而不考虑疾病的病因[29]。相反,另一项对116名患有感染性和非感染性慢性肝病的儿童的研究显示,APRI、FibroTest和肝纤维化分期之间存在相关性[35]。波兰科学家对患有慢性肝炎B期和C期肝纤维化的儿童进行了一项研究,其组织学活性指数表明,FibroTest和ActiTest与病理形态学评估没有很好的相关性[41]。在评估无创纤维化指标AAR、APRI、PGA、Forns、FIB4和pediatric NAFLD fibrosis index(PNFI)在77例非酒精性脂肪肝患儿中的作用时,仅APRI和FIB4在F0-1和F2-4患者中差异有统计学意义[47]。对慢性丙型肝炎患儿,

肝纤维化指标

Liver fibrosis indices

标题 / Title	疾病分类学 / Nosology	指标 / Indicators	工作范围 / Diagnostic range (METAVIR ¹ / Ishak ²)
间接 / Indirect			
AAR	CLD / CLD	AST, ALT / AST, ALT	F4 ¹
APRI	HCV+HIV	天冬氨酸转氨酶, 血小板 / AST, platelets	F0-1自F3-4 ¹ / F0-1 from F3-4 ¹
Fib-4	HCV, HCV+HIV	ALT, AST, 血小板, 年龄 / ALT, AST, platelets, age	F0-1自F3-4 ¹ / F0-1 from F3-4 ¹
Forns	HCV	血小板, GGT, HS, 年龄 / Platelets, GGT, HS, age	F0-3自F4-6 ² / F0-3 from F4-6 ²
Fibroindex	HCV	AST, 血小板, γ -球蛋白 / AST, platelets, γ -globulin	F0-1自F2-4 ¹ / F0-1 from F2-4 ¹
GUCI	HCV	血小板, AST, PT / Platelets, AST, INR	F4 ¹
HALT-C%	HCV	血小板, ALT, AST, PT / Platelets, ALT, AST, INR	F4 ¹ , % / F4 ¹ in %
MDA	HCV	血小板, ALT, AST, AP, 白蛋白 / Platelets, ALT, AST, ALP, albumin	F4 ¹
PGA	AH / ALD	PT, GGT, APO-lipoprotein A1 / INR, GGT, apo-A1	F0-1自F2-3自F4 ¹ / F0-1 from F2-3 from F4 ¹
FibroTest	HCV, HCV+HIV	A2-MG, HB, apo-A1, GGT, Bil, 年龄, 性别 / A2-MG, HB, apo-A1, GGT, Bil, age, sex	F0-4 ^{1,2} 和中间阶段 / F0-4 ^{1,2} , and intermediate stages
FibroMax	CLD / CLD	ALT, AST, Bil, GGT, Gl, HS, TG, A2-MG, apo-A1, HB / ALT, AST, Bil, GGT, Gl, HS, TG, A2-MG, apo-A1, HB	F0-4 ^{1,2} 和中间阶段 / F0-4 ^{1,2} and intermediate stages
直接 / Direct			
MP3	HCV	pro-K III, MMP-1 / pro-K III, MMP-1	F2, F3, F4 ¹
ELF	CLD / CLD	透明质酸, pro-K III I, TIMP-1 / HA, pro-K III, TIMP-1	F0-1自F3-4 ¹ / F0-1 from F3-4 ¹
结合 / Combined			
Hepascore	HCV	Bil, GGT, A2-MG, 透明质酸, 年龄, 性别 / Bil, GGT, A2-MG, HA, age, sex	F2-4自F3-4 ¹ / F2-4 from F3-4 ¹
SHASTA	HCV+HIV	AST, 白蛋白, 透明质酸 / AST, albumin, HA	F0-1自F3-4 ¹ / F0-1 from F3-4 ¹
FibroSpect II	HCV	A2-MG, 透明质酸, TIMP-1 / A2-MG, HA, TIMP-1	F0-1自F2-4 ¹ / F0-1 from F2-4 ¹
Fibrometer	CLD / CLD	血小板, ALT, AST, 透明质酸, A2-MG, PTI, 尿素, 铁蛋白, Gl / Platelets, ALT, AST, HA, A2-MG, PI, urea, ferritin, Gl	F0-1, F2自F3-4 ¹ / F0-1, F1-2 from F3-4 ¹

注: CLD—慢性肝病; AP—碱性磷酸酶; AH—酒精性肝炎; GGT— γ -谷氨酰转移酶; PT—前凝血酶时间; APO-lipoprotein A1—脱脂高密度脂蛋白A1; A2-MG— α 2-巨球蛋白; HB—结合珠蛋白; Bil—胆红素; MMP-1—基质金属蛋白酶1; TIMP-1—基质金属蛋白酶抑制剂-1; Gl—葡萄糖; Cl—胆固醇; Triglyceride—三酰甘油; pro-K III—III型前胶原肽; PTI—血酶原指数。

Notes. CLD – chronic liver disease; ALP – alkaline phosphatase; ALD – alcoholic liver disease; GGT – gamma-glutamyltransferase; Apo-A1 – apo-lipoprotein A1; A2-MG – alpha-2-macroglobulin; INR – international normalized ratio; HB – haptoglobin; Bil – bilirubin; MMP-1 – matrix metalloproteinase-1; TIMP-1 – tissue inhibitor of metalloproteinases-1; Gl – glucose; HS – cholesterol; TG – triglycerides; pro-K III – pro-collagen III; PI – protrombin index.

通过分析血小板数量、白蛋白浓度、肿瘤坏死因子(TNF α),描述了定量鉴别肝纤维化分期的TFA指标,诊断敏感性为93.3%,特异度为88%[22]。该指标可排除肝纤维化(F0),诊断为中度(根据METAVIR, F1-2)和重度纤维化(F3-4)。

使用的侵袭性和非侵袭性方法允许我们在研究时确定纤维化的阶段,但不能提供关于其进展可能性的可靠信息,而为了提高诊断价值,需要使用多种非侵入性的方法,但这并不一定能提高其诊断价值。

肝纤维化的预测

包括在儿童中,预测肝纤维化发展速度的研究很少。一项研究表明肝纤维化的进展率与肾素-血管紧张素系统的一些基因的单核苷酸取代、氧化应激和内皮功能障碍之间存在联系。*CYBA*基因242 T T、(-6)AA和*AGT*基因235 M T对慢性丙型肝炎患者肝纤维化的快速进展不利[18]。基于回顾、实验室(血红蛋白、球蛋白、肌酐)和穿刺活检病理形态学和免疫组化研究数据(METAVIR纤维化期,肝组织平滑肌细胞(SMA)CD8淋巴细胞和肌动蛋白绝对含量为1 mm³),建立了预测慢性丙型肝炎患者肝纤维化率的模型[11]。提出了一种评估慢性丙型肝炎患者肝纤维化进展的模型。因此,根据多元回归方程,当血小板计数小于 $282 \times 10^9/L$ 、TNF α 大于1.9 PG/ml、白蛋白水平小于47.3 g/L时,F0发生F1-2进展的风险增加。预测从F1-2到F4 -4的血小板值小于 $200 \times 10^9/L$, TNF α 大于2.8 PG/ml,白蛋白小于44.1 g/L[22]。

因此,诊断肝纤维化及肝脏病理过程活动阶段的参考方法仍是穿刺活检,但存在一定的局限性和技术难点。仪器

诊断的筛查方法,如超声、多普勒造影术,不允许区分儿童肝纤维化的分期。腹部器官的MRI、CT和闪烁成像也需要制定肝纤维化中期可视化的标准。与TE相比,ARFI和2D SWE弹性成像具有优势。个别的肝纤维化直接标志物和指标的作用是有争议的,需要进一步的研究,包括对每个疾病的单独研究。在这方面,进一步研究最有希望的方向是寻找新的血清纤维化标记物和因子,使能够验证其中期阶段和儿童的进展速度。

利益冲突: 本文作者已经证实,没有财务支持/利益冲突需要报告。

REFERENCES

1. Алексеева Л.А., Бессонова Т.В., Горячева Л.Г., и др. Прогностическое значение биохимических показателей при неонатальных гепатитах различной этиологии // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 12. – С. 3–7. [Alekseyeva LA, Bessonova TV, Goryatcheva LG, et al. The prognostic value of biochemical indicators under neonatal hepatitis of different etiology. *Russian clinical laboratory diagnostics*. 2013;(12):3-7. (In Russ.)]
2. Воынец Г.В., Потапов А.С., Пахомовская Н.Л. Хронический герпес-вирусный гепатит у детей: клиника, диагностика, особенности лечения // Российский педиатрический журнал. – 2011. – № 4. – С. 24–29. [Volynets GV, Potapov AS, Pakhomovskaya NL. Chronic herpesvirus hepatitis: clinical presentation, diagnosis, and specific features of treatment. *Russian pediatric journal*. 2011;(4):24-29. (In Russ.)]
3. Грешнякова В.А., Горячева Л.Г. Влияние полиморфизма IL28B на реализацию перинатального контакта и формирование хронического гепатита С у детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2017. – Т. 96. – № 6. – С. 72–75. [Greshnyakova VA, Gorjacheva LG. Influence of IL28B polymorphism on perinatal contact and chronic hepatitis C formation in children. *Pediatratriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2017;96(6): 72-75. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2017-96-6-72-75>.
4. Дворяковская Г.М., Ивлева С.А., Дворяковский И.В., и др. Возможности ультразвуковой

- диагностики в оценке выраженности фиброза у детей с хроническими гепатитами // Российский педиатрический журнал. – 2013. – № 2. – С. 31–38. [Dvoryakovskaya GM, Ivleva SA, Dvoryakovskiy IV, et al. Possibilities of ultrasonic diagnostics in assessment of extent of fibrosis (stage) in children with chronic hepatitis. *Russian pediatric journal*. 2013;(2):31–38. (In Russ.)]
5. Журавлева А.К., Огнева О.В. Современные возможности диагностики и количественного определения фиброза печени // Восточноевропейский журнал внутренней и семейной медицины. – 2015. – № 2. – С. 55–60. [Zhuravlyova AK, Ogneva OV. Modern possibilities of diagnosis and quantification of liver fibrosis. *Vostochnoevropeiskii zhurnal vnutrennei i semeinoi meditsiny*. 2015;(2): 55–60. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15407/internalmed2015.02.055>.
 6. Ивлева С.А., Дворяковский И.В., Смирнов И.Е. Современные неинвазивные методы диагностики фиброза печени у детей // Российский педиатрический журнал. – 2017. – Т. 20. – № 5. – С. 300–306. [Ivleva SA, Dvoryakovskiy IV, Smirnov IE. Modern non-invasive methods of diagnostics of liver fibrosis in children. *Russian pediatric journal*. 2017;20(5): 300–306. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18821/1560-9561-2017-20-5-300-306>.
 7. Игнатович Т.В., Зафранская М.М. Иммунопатогенез фиброза // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 1. – С. 6–17. [Ihnatovich TV, Zafranskaya MM. The immunopathogenesis of fibrosis. *Immunopatologiya, allergologiya, infectologiya*. 2019;(1):6–17. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14427/jipai.2019.1.6>.
 8. Кляритская И.Л., Шелихова Е.О., Мошко Ю.А. Транзиентная эластография в оценке фиброза печени // Крымский терапевтический журнал. – 2015. – № 3. – С. 18–30. [Klyaritskaya IL, Sheliikhova EO, Moshko YuA. Transient elastography in the assessment of liver fibrosis. *Crimean journal of internal diseases*. 2015;(3):18–30. (In Russ.)]
 9. Комарова Д.В., Цинзерлинг В.А. Морфологическая диагностика инфекционных поражений печени. – СПб.: Сотис, 1999. – 245 с. [Komarova DV, Tsinzerling VA. Morfologicheskaya diagnostika infektsionnykh porazhenii pecheni. Saint Petersburg: Sotis; 1999. 245 p. (In Russ.)]
 10. Кулебина Е.А., Сурков А.Н. Механизмы формирования фиброза печени: современные представления // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2019. – Т. 98. – № 6. – С. 166–170. [Kulebina EA, Surkov AN. The current views on the mechanisms of liver fibrosis formation. *Pediatrriia. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2019;98(6):166–170. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-6-166-170>.
 11. Лобзин Д.Ю. Клиническая и иммуногистохимическая оценка скорости фиброза у больных хроническим гепатитом С: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 201. – 112 с. [Lobzin DYU. Klinicheskaya i immunogistokhimicheskaya otsenka skorosti fibroza u bol'nykh khronicheskim gepatitom S. [dissertation abstract] Saint Petersburg; 2019. 112 p. (In Russ.)]
 12. Лобзин Ю.В., Горячева Л.Г., Рогозина Н.В., и др. Новые возможности диагностики и перспективы лечения поражений печени у детей // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2. – № 2. – С. 6–13. [Lobzin YuV, Goryacheva LG, Rogozina NV, et al. New diagnostic and treatment perspectives of children's hepatic lesions. *Jurnal infektologii*. 2010;2(2):6–13. (In Russ.)]
 13. Мороз Е.А., Ротин Д.Л. Роль морфологического исследования в диагностике хронических заболеваний печени в XXI веке // Эффективная фармакотерапия. – 2014. – № 2. – С. 60–62. [Moroz EA, Rotin DL. The role of morphological research in the diagnosis of chronic liver diseases in the XXI century. *Effective pharmacotherapy*. 2014;(2):60–62. (In Russ.)]
 14. Патент РФ на изобретение RU № 2706699 С1. Карев В.Е., Карабак И.А., Лобзин Ю.В. Способ прогнозирования неблагоприятного течения фиброза печени при хроническом гепатите С. [Patent RUS № 2706699 S1. Karev VE, Karabak IA, Lobzin YuV. Sposob prognozirovaniya neblagopriyatnogo techeniya fibroza pecheni pri khronicheskom gepatite S. (In Russ.)]. Доступно по: https://yandex.ru/patents/doc/RU2706699C1_20191120. Ссылка активна на 18.07.2020.
 15. Райхельсон К.Л., Марченко Н.В., Семенов Н.В., и др. Роль трансформирующего β -фактора роста в развитии некоторых заболеваний печени // Терапевтический архив. – 2014. – Т. 86. – № 2. – С. 44–48. [Raikhelson KL, Marchenko NV, Semenov NV, et al. The role of transforming β -growth factor in the development of certain liver diseases. *Therapeutic archive*. 2014;86(2):44–48. (In Russ.)]
 16. Романова С.В., Жукова Е.А., Видманова Т.А., Коркоташвили Л.В. Механизмы формирования фиброза при хронических заболеваниях печени у детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2012. – Т. 91. – № 4. – С. 32–37. [Romanova SV, Zhukova EA, Vidmanova TA, Korkotashvili LV. Mechanisms of the formation of fibrosis in chronic liver diseases in children. *Pediatrriia. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2012;91(4):32–37. (In Russ.)]

17. Соколова О.В., Насыров Р.А. Особенности морфологических изменений ткани печени в случаях внезапной сердечной смерти от алкогольной кардиомиопатии // Педиатр. – 2017. – Т. 8. – № 1. – С. 55–60. [Sokolova OV, Nasyrov RA. Features of morphological changes of the liver's tissue in cases of sudden cardiac death because of alcoholic cardiomyopathy. *Pediatr.* 2017;8(1):55-60. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/PED8155-60>.
18. Таратина О.В., Самоходская Л.М., Краснова Т.Н., Мухин Н.А. Прогнозирование скорости развития фиброза печени у больных хроническим гепатитом С на основе комбинации генетических и средовых факторов // Альманах клинической медицины. – 2017. – Т. 45. – № 5. – С. 392–407. [Taratina OV, Samokhodskaya LM, Krasnova TN, Mukhin NA. Predicting the rate of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection based on the combination of genetic and environmental factors. *Al'manah klinicheskoy meditsiny.* 2017;45(5):392-407. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18786/20720505-2017-45-5-392-407>.
19. Учайкин В.Ф., Чуелов С.Б., Россина А.Л., и др. Циррозы печени у детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2008. – Т. 87. – № 5. – С. 49–55. [Uchaikin VF, Chuelov SB, Rossina AL, et al. Pediatric liver cirrhosis. *Pediatr. Zhurnal im. G.N. Speranskogo.* 2008;87(5):49-55. (In Russ.)]
20. Циммерман Я.С. Фиброз печени: патогенез, методы диагностики, перспективы лечения // Клиническая фармакология и терапия. – 2017. – Т. 26. – № 1. – С. 54–58. [Tsimmerman YaS. Liver fibrosis: pathogenesis, diagnostic methods, treatment prospects. *Clinical pharmacology and therapy.* 2017;26(1):54-58. (In Russ.)]
21. Чуелов С.Б., Россина А.Л., Чередниченко Т.В., и др. Сывороточные маркеры фиброза печени у детей: диагностическое и прогностическое значение // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2008. – Т. 87. – № 6. – С. 67–73. [Chuelov SB, Rossina AL, Cherednichenko TV, et al. Syvorotchnye markery fibroza pecheni u detey: diagnosticheskoe i prognosticheskoe znachenie. *Pediatr. Zhurnal im. G.N. Speranskogo.* 2008;87(6):67-73. (In Russ.)]
22. Щекотова А.П., Булатова И.А., Титов В.Н. Неинвазивная доступная информативная лабораторная панель определения фиброза печени – индекс ТФА // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. – Т. 62. – № 11. – С. 682–685. [Shchekotova AP, Bulatova IA, Titov VN. The non-invasive accessible informative laboratory panel for detection of liver fibrosis – TEA index. *Russian clinical laboratory diagnostics.* 2017;62(11):682-685. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-11-682-685>.
23. Behrens G, Ferral H. Transjugular liver biopsy. *Semin Intervent Radiol.* 2012;29(2):111-117. <https://doi.org/10.1055/S-0032-1312572>.
24. Boursier J, Isselin G, Fouchard-Hubert I, et al. Acoustic radiation force impulse: a new ultrasonographic technology for the widespread noninvasive diagnosis of liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2010;22(9):1074-1084. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e328339e0a1>.
25. Brittain JM, Borgwardt L. Potential pitfalls on the 99mTc-mebrofen in hepatobiliary scintigraphy in a patient with biliary atresia splenic malformation syndrome. *Diagnostics (Basel).* 2016;6(1):5. <https://doi.org/10.3390/diagnostics6010005>.
26. Chavhan GB, Shelmerdine S, Jhaveri K, et al. Liver MR imaging in children: current concepts and technique. *Radiographics.* 2016;36(5):1517-1532. <https://doi.org/10.1148/rg.2016160017>.
27. Cheema HA, Parkash A, Suleman H, Fayyaz Z. Safety of outpatient blind percutaneous liver biopsy (OBPLB) in children and to document the spectrum of pediatric liver disease. *Pak Pediatr J.* 2015;39(1):12-18.
28. Deitrich CF, Sirli R, Ferraioli G, et al. Current knowledge in ultrasound-based liver elastography of pediatric patients. *Appl Sci.* 2018;8(6):944. <https://doi.org/10.3390/app8060944>.
29. Flores-Calderón J, Morán-Villota S, Ramón-García G, et al. Non-invasive markers of liver fibrosis in CLD. *Annals of Hepatology.* 2012;11(3):364-368.
30. Gerstenmaier JF, Gibson RN. Ultrasound in chronic liver disease. *Insights Imaging.* 2014;5(4):441-455. <https://doi.org/10.1007/s13244-014-0336-2>.
31. Gibson PR, Gibson RN, Donlan JD, et al. Duplex doppler ultrasound of the ligamentum teres and portal vein: a clinically useful adjunct in the evaluation of patients with known or suspected chronic liver disease or portal hypertension. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;6(1):61-65. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1991.tb01147.x>.
32. Kuntz E, Kuntz HD. Hepatology textbook and atlas. 3rd ed. Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2008. 937 p. <https://doi.org/10.1007/9783-540-76839-5>.
33. Lebensztejn DM, Skiba E, Sobaniec-Lotowska ME, Kaczmarowski M. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in children with chronic hepatitis B treated with lamivudine. *Adv Med Sci.* 2007;52: 114-119.
34. Lebensztejn DM, Sobaniec-Lotowska M, Kaczmarowski M, et al. Serum concentration of transform-

- ing growth factor (TGF)-beta 1 does not predict advanced liver fibrosis in children with chronic hepatitis B. *Hepatogastroenterology*. 2004;51(55): 229-233.
35. Lédinghen V, Le Bail B, Rebouissoux L, et al. Liver stiffness measurement in children using fibroscan: feasibility study and comparison with fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007;45(4):443-450. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31812e56ff>.
 36. Leroy Y, Monier F, Bottari S, et al. Circulating matrix metalloproteinases 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 Gastroenterol*. 2004;99(2): 271-279. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.04055.x>.
 37. Li N, Ding H, Fan P, et al. Intrahepatic transit time predicts liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: quantitative assessment with contrast-enhanced ultrasonography. *Ultrasound Med Biol*. 2010;36(7):1066-1075. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2010.04.012>.
 38. Li ZX, He Y, Wu J, et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis in children with infant hepatitis syndrome. *World J Gastroenterol*. 2006;12(44): 7155-7160. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i44.7155>.
 39. Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, et al. Performance of a new elastographic method (ARFI technology) compared to unidimensional transient elastography in the noninvasive assessment of chronic hepatitis C. Preliminary results. *J Gastrointest Liver Dis*. 2009;18(3):303-310.
 40. Ming-bo Z, En-ze Q, Ji-Bin L, Jin-rui W. Quantitative assessment of hepatic fibrosis by contrast-enhanced ultrasonography. *Chinese Med Sci J*. 2011;26(4):208-215. [https://doi.org/10.1016/s1001-9294\(12\)60002-9](https://doi.org/10.1016/s1001-9294(12)60002-9).
 41. Pokorska-Śpiewak M, Kowalik-Mikołajewska B, Aniszewska M, et al. Non-invasive evaluation of the liver disease severity in children with chronic viral hepatitis using FibroTest and ActiTest – comparison with histopathological assessment. *Clin Exp Hepatol*. 2017;3(4):187-193. <https://doi.org/10.5114/ceh.2017.71079>.
 42. Seitz K, Strobel DA. A milestone: approval of CEUS for diagnostic liver imaging in adults and children in the USA. *Ultraschall Med*. 2016;37(3):229-232. <https://doi.org/10.1055/s-0042-107411>.
 43. Toyoda H, Kumada T, Kamiyama N, et al. B-mode ultrasound with algorithm based on statistical analysis of signals: evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Roentgenol*. 2009;193(4): 1037-1043. <https://doi.org/10.2214/AJR.07.4047>.
 44. Treece G, Lindop J, Chen L, et al. Real-time quasi-static ultrasound elastography. *Interface Focus*. 2011;1(4):540-552. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2011.0011>.
 45. Tulin-Silver S, Obi C, Kothary N, Lungren M. Comparison of transjugular liver biopsy and percutaneous liver biopsy with tract embolization in pediatric patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018;67(2):180-184. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001951>.
 46. Valva P, Casciato P, Carrasco JM, et al. The role of serum biomarkers in predicting fibrosis progression in pediatric and adult hepatitis C virus chronic infection. *PLoS One*. 2011;6(8): e23218. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023218>.
 47. Yang HR, Kim HR, Kim MJ, et al. Noninvasive Parameters and hepatic fibrosis scores in children with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2012;18(13):1525-1530. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i13.1525>.

Information about the authors:

Natalya A. Efremova – Junior Researcher of Viral Hepatitis Department. Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia. E-mail: naftusy@inbox.ru.

Larisa G. Goryacheva – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Leading Researcher of Viral Hepatitis Department. Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia; Associate Professor, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia E-mail: goryacheva@list.ru.

Irina A. Karabak – Postgraduate Student of the Department of Tissue and Pathomorphological Research Methods, Pathologist of Department of Pathology. Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia. E-mail: irina-karabak@mail.ru.