

На правах рукописи



ГАЛУШКО
Михаил Юрьевич

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург — 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Бакулин Игорь Геннадьевич – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Павлов Александр Игоревич – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «3 Центральный Военный Клинический Госпиталь имени А.А. Вишневского» Министерства обороны Российской Федерации, центр гастроэнтерологии и гепатологии, начальник, главный гастроэнтеролог.

Гусев Денис Александрович – доктор медицинских наук, Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина», главный врач.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится _____ 20__ г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д.208.086.08 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 191015, Санкт-Петербург, Пискаревский проспект, дом 47, пав. 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России и на сайте <https://szgmu.ru/>.

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор  И.А. Оганезова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Хронический гепатит С (ХГС) представляет собой инфекционное заболевание, в исходе которого формируется жизнеугрожающее состояние – цирроз печени (ЦП). Кроме того, это заболевание является фактором риска возникновения гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и других хронических заболеваний, таких как патология сердечно-сосудистой системы, сахарный диабет 2 типа, хроническая болезнь почек и других (Pimpin L. et al, 2018).

Во всём мире ХГС страдает около 71 миллиона человек, от ЦП и ГЦК в исходе ХГС каждый год умирает около 399 000 человек (URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>). В России доля ЦП в структуре смертности молодого населения в возрасте 15-49 лет составляет 6,95% по состоянию на 2017 год, доля ГЦК составляет 0,056%, и оба этих показателя растут с конца 1990-х годов (URL: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare>).

В соответствии с Глобальной стратегией ВОЗ по борьбе с вирусными гепатитами, принятой в 2016 году, 90% инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) должны быть выявлены к 2030 году. Выявление ВГС среди лиц без каких бы то ни было клинических проявлений заболевания представляет собой довольно сложную задачу, решение которой потребует проведения отдельных скрининговых мероприятий, как лабораторных, так и, возможно, инструментальных.

В России по состоянию на 2018 год ХГС составил основную долю (77,6%) от впервые зарегистрированных случаев хронических вирусных гепатитов. Заболеваемость ХГС, отражённая в официальных документах, в 2018 г. составила 32,72 на 100 тыс. населения (М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019). Поскольку ХГС в основном протекает без выраженных клинических и лабораторных симптомов, доля выявленных инфицированных, по мнению некоторых экспертов, составляет едва ли не половину от всех инфицированных (Ющук Н. Д. и др. 2018).

Длительность заболевания от момента инфицирования до формирования выраженного фиброза и цирроза печени варьирует в пределах от 15 до 20 лет. На фоне цирроза печени эффективность противовирусной терапии ХГС снижается, а в некоторых случаях

(класс В и С по Child-Pugh) противовирусная терапия противопоказана (Ивашкин В. Т. и др., 2017).

Во многом основываясь на стадии фиброза, выбирается тактика ведения пациентов с ХГС. Раннее выявление и точное определение стадии фиброза важно не только в качестве ключевого фактора для выбора тактики лечения ХГС, но, при условии применения неинвазивных технологий, также может использоваться в качестве скрининговой модели для раннего выявления фиброза печени на доцирротических стадиях. Это может значительно повысить эффективность терапевтических мероприятий, а также снизить финансовые затраты на лечение пациентов, так как лечение ХГС на фоне ЦП более длительное, более дорогостоящее, требует более частого лабораторного контроля в связи с тяжестью состояния пациента, а также требует дополнительного лечения осложнений (таких как тромбоцитопения, кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода и др.), сопровождающих ЦП.

Активная репликация ВГС при хроническом течении заболевания в значительном количестве случаев (по данным разных авторов от 20 до 40% всех пациентов с ХГС) не сопровождается выраженной некровоспалительной активностью (нормальный уровень аминотрансфераз при повторных тестированиях на протяжении не менее 6 месяцев). Несмотря на это, у таких пациентов может развиваться и прогрессировать фиброз печени, зачастую являющийся основным проявлением заболевания наряду с наличием виремии ВГС, выявляемой методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Таким образом, точная диагностика фиброза важна не только для определения срочности начала лечения, его продолжительности, необходимости более интенсивного клинического наблюдения, но также может послужить скрининговым методом для первичного выявления заболевания печени при отсутствии каких-либо клинико-лабораторных симптомов. Кроме того, стадия фиброза является одним из наиболее значимых факторов в оценке прогноза, скорости прогрессирования заболевания и его исхода (Ивашкин В. Т. и др., 2017; Chung R. T. et al., 2015; Pawlotsky J.-M. et al., 2016), а также в оценке скорости и степени регресса фиброза после эффективной противовирусной терапии.

В связи с ограничениями биопсии печени с 2000-х годов активно разрабатываются различные неинвазивные методы диагностики фиброза. Все использующиеся на сегодняшний день в клинической практике методы не обладают желаемой точностью, каждый имеет свои ограничения, их диагностическая значимость в различных клинических ситуациях недостаточно изучена, и результаты этих методов должны оцениваться с осторожностью (Chung R. T. et al., 2015).

Таким образом, с одной стороны, в клинической практике существует необходимость точной диагностики фиброза, а с другой, все существующие методы не обладают желаемой точностью. Эксперты Европейской ассоциации по изучению заболеваний печени предприняли попытку урегулировать это противоречие путём комбинированного применения нескольких неинвазивных методов для повышения точности оценки выраженности фиброза печени при ХГС (Castéra L. et al., 2015). Однако алгоритма совокупной оценки результатов диагностики фиброза несколькими методами в настоящее время не предлагается, и точное определение стадии фиброза в случаях выраженных расхождений результатов остаётся нерешённым вопросом.

Степень разработанности темы. Среди неинвазивных методов диагностики фиброза хорошо изучены транзистентная эластометрия датчиком M прибора FibroScan® (M-эластометрия) и сывороточный маркёр FibroTest®. При этом транзистентная эластометрия датчиком XL (XL-эластометрия) и соноэластография сдвиговой волной изучены существенно меньше. В большинстве исследований и публикаций, посвящённых транзистентной эластометрии, изучаются и описываются характеристики M-эластометрии. Особенности XL-эластометрии изучены и описаны недостаточно.

Несмотря на большое количество работ, описывающих недостатки биопсии печени в роли референсного («золотого») стандарта, до сих пор в подавляющем большинстве исследований при оценке фиброза проводится сравнение эффективности новых методов с биопсией, используемой в качестве «золотого» стандарта. Однако, по мнению многих исследователей, от неинвазивных методов диагностики нельзя ожидать достижения идеальных характеристик при сравнении их с биопсией печени, –

методом, с помощью которого невозможно точно оценить печёночное повреждение и фиброз в масштабах всего органа (Mehta S.H. et al., 2009; Ziol M. et al., 2005).

В условиях неидеального «золотого» стандарта биостатистикой, признанной одним из основных элементов доказательной медицины, рекомендуется использовать виртуальный референсный стандарт с использованием экспертной оценки или анализа латентных переменных (Reitsma J.B. et al., 2009).

Несмотря на остроту проблемы и активность её обсуждения в научном сообществе, теме сравнительной оценки неинвазивных диагностических методов без использования биопсии в качестве «золотого» стандарта исследователи начали посвящать свои немногочисленные работы лишь в последние годы (Fernandes F.F. et al., 2017; Poynard T. et al., 2013; Poynard T. et al., 2012), среди которых одной из последних является работа Бразильских исследователей (Fernandes F.F. et al., 2017). В исследовании изучается диагностическая эффективность нескольких неинвазивных методов (М-эластометрии, сывороточных маркёров – индексов APRI и ELF), а также биопсии печени. В качестве способа получения референсного стандарта применяется анализ латентных классов.

Сравнительный анализ диагностической эффективности изучаемых в рамках настоящей работы методов, с использованием экспертной оценки в качестве способа получения референсного стандарта, ранее не проводился.

С ростом частоты использования в клинической практике неинвазивных методов диагностики фиброза стали появляться публикации оригинальных исследований и рекомендации ведущих международных ассоциаций по изучению печени, предлагающие для повышения точности результата использовать сочетанное применение нескольких неинвазивных методов. Однако единый обоснованный подход к выбору оптимальной комбинации различных методов на сегодняшний день не разработан. Также не разработана методика проведения совокупной оценки результатов диагностики несколькими различными методами, что в случае их выраженного расхождения между собой может привести к усложнению клинической задачи по постановке окончательного диагноза стадии фиброза. Универсальный подход к совокупной

оценке нескольких результатов, удобный для использования в клинической практике, не разработан.

Цель исследования: оценить диагностическую значимость клинических проявлений, лабораторно-инструментальных и морфологических методов определения фиброза печени у пациентов с ХГС в интересах оптимизации и повышения точности диагностики фиброза печени.

Задачи исследования:

1. Провести анализ частоты встречаемости клинических проявлений на разных стадиях фиброза, определить их значимость в качестве вспомогательных индикаторов фиброза печени.
2. В рамках аналитического подхода, не подразумевающего применение референсного стандарта, провести сравнительный анализ результатов диагностики фиброза печени изучаемыми методами (транзиентной эластометрией датчиком М (М–эластометрией) и датчиком XL (XL–эластометрией), фибротестом, биопсией печени и соноэластографией сдвиговой волной) и определить влияние различных факторов (антропометрических характеристик пациента, клинических проявлений заболевания, лабораторных показателей, диагностических методов, диагностируемой стадии фиброза) на вариабельность результатов диагностики фиброза печени.
3. Используя результаты подхода, не подразумевающего применение референсного стандарта, разработать алгоритм проведения экспертной оценки (ЭО), представляющей собой многофакторную модель постановки диагноза фиброза печени, комплексно учитывающую все диагностические параметры; в результате ЭО получить референсный стандарт (окончательный диагноз стадии фиброза у каждого пациента когорты) и применить его для сравнительного анализа эффективности диагностических методов в подходе, использующем референсный стандарт; оценить применимость ЭО для определения эффективности различных методов диагностики фиброза.
4. Провести сравнение эффективности пяти изучаемых методов при диагностике разных стадий фиброза шкалы METAVIR с помощью ROC-анализа, в котором ЭО используется в качестве референсного стандарта; выявить оптимальную комбинацию

неинвазивных методов, обеспечивающую наибольшую точность диагностики фиброза на всех стадиях.

5. Разработать математическую модель совокупной оценки результатов диагностики фиброза печени у пациентов с ХГС при использовании различных комбинаций нескольких методов.

Научная новизна. Впервые разработан оригинальный алгоритм на основе анализа распространённости клинических проявлений заболевания на разных стадиях фиброза, определения роли различных факторов (антропометрических характеристик пациента, клинических проявлений заболевания, лабораторных показателей, диагностических методов, диагностируемой стадии фиброза) в получении ложных результатов; анализа степени и глубины рассогласованности результатов, который лёг в основу конструирования референсного стандарта (ЭО) для последующего определения чувствительности и специфичности методов диагностики фиброза.

Впервые использована ЭО в качестве метода получения референсного стандарта. Впервые проведён сравнительный анализ эффективности различных методов диагностики фиброза печени у пациентов с ХГС при смене референсного стандарта с классического (БП) на аналитический (ЭО). Впервые изучена применимость ЭО в качестве референсного стандарта при сравнительном анализе эффективности различных методов диагностики фиброза печени.

Впервые изучена эффективность различных комбинаций методов диагностики фиброза печени. Впервые создана математическая модель совокупной оценки результатов нескольких методов с использованием множественного линейного регрессионного анализа.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Определена эффективность различных методов диагностики фиброза печени как отдельно взятых, так и их комбинаций без применения биопсии печени в роли «золотого стандарта».
2. Предложен новый способ получения референсного стандарта (экспертная оценка), основанный на строгом алгоритме, разработанном в ходе работы.
3. Разработан способ совокупной оценки результатов диагностики фиброза печени несколькими неинвазивными методами, обеспечивающий точное итоговое определение стадии фиброза

печени у пациентов с ХГС. Обладая высокой точностью за счёт применения комбинации методов, способ устраняет противоречие в случае расхождения результатов диагностики и обеспечивает лёгкую воспроизводимость в клинической практике.

Методология и методы исследования. В основу методологии диссертационного исследования положены принципы доказательной медицины. Теоретической основой работы явились публикации отечественных и зарубежных авторов. Исследование одноцентровое, простое, проспективное, диагностическое. Для решения поставленных задач проводилось клинико-инструментальное обследование, включающее сбор анамнеза, физикальное исследование, клинический анализ крови, ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости с доплерографией. Диагностика фиброза печени включала следующие методы: транзиентная эластометрия с помощью аппарата FibroScan® (Echosens, Франция) M-датчиком и XL-датчиком; биохимический анализ крови с определением параметров, входящих в ФиброМакс® (BioPredictive, Франция): аланин-аминотрансфераза (АЛТ), аспартат-аминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), общий билирубин, общий холестерин, триглицериды, глюкоза, альфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, гаптоглобин; пункционная биопсия печени; соноэластография сдвиговой волной с помощью аппарата Aixplorer® (SuperSonic Imagine, Франция).

При статистической обработке данных использовался программный пакет Statistica, версия 12.6 (разработчик – компания StatSoft) и программный пакет XLSTAT (разработчик – компания Addinsoft). Статистический анализ включал: анализ клинических манифестаций фиброза; анализ масштаба расхождений результатов с последующей их стратификацией по степени рассогласованности и по амплитуде расхождений; оценка диагностических возможностей каждого метода с помощью попарных сравнений с применением χ^2 -критерия Пирсона, парного td-критерия достоверности разницы; анализ факторов и методов, обуславливающих вариабельность результатов с применением критерия Манна-Уитни, критерия Уилкоксона, χ^2 -критерия Пирсона, ранжирования, С-коэффициента взаимной сопряжённости Пирсона, rs-коэффициента ранговой корреляции

Спирмена; оценка диагностической эффективности методов с применением ROC-анализа; создание математической модели с применением множественного линейного регрессионного анализа.

Дизайн исследований, статистическая обработка полученных данных, а также результаты апробации отвечают цели и задачам диссертационного исследования и соответствуют требованиям доказательной медицины. Выводы и положения, выносимые на защиту, основаны на результатах всестороннего изучения литературных источников и статистического анализа собственных научных данных. Диссертационное исследование одобрено этическим комитетом (Протокол №11-18 Межвузовского Комитета по этике от 20.12.18, г. Москва).

Положения, выносимые на защиту

1. Клинические проявления могут выступать в роли вспомогательных индикаторов цирроза при использовании многофакторной модели построения диагноза. Спленомегалия и гиперпигментация кожи голеней могут использоваться в качестве вспомогательных индикаторов цирроза печени; отсутствие каких-либо клинических проявлений следует расценивать в качестве косвенного критерия отсутствия цирроза печени.
2. Среди антропометрических характеристик пациентов, клинических проявлений заболевания, лабораторных показателей ни один из показателей не влиял на вариабельность результатов диагностики фиброза печени. Факторами, обеспечивавшими вариабельность результатов, выступали отдельные методы диагностики и устанавливаемая стадия фиброза: фибротест обеспечивал большинство случаев вариабельности результатов на всех стадиях фиброза, БП – при разграничении наличия фиброза ($F \geq 1$) от его отсутствия ($F=0$).
3. Разработанная и использованная в настоящей работе экспертная оценка, заключающаяся в аналитическом определении стадии фиброза печени у каждого пациента на основе свода строгих правил её проведения, является новым высокоинформативным методом, применимым для использования в качестве референсного стандарта при расчёте эффективности различных методов диагностики фиброза, обладающим более высокими диагностическими характеристиками, чем традиционный неидеальный «золотой» стандарт – биопсия печени.

4. Оптимальной комбинацией неинвазивных методов, сочетанное применение которых повышает точность окончательного диагноза фиброза печени на всех стадиях шкалы METAVIR, является М-эластометрия, XL-эластометрия и соноэластография сдвиговой волной.
5. Реализованный в настоящей работе способ совокупного вычисления стадии фиброза при комбинированном применении нескольких диагностических методов является надёжным, легко воспроизводимым и эффективным решением задачи повышения точности диагностики фиброза в клинической практике.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведен информационно-патентный поиск, проанализированы отечественные и зарубежные источники литературы по теме научной работы, написан обзор литературы. Самостоятельно разработан дизайн работы и план обследования больных. Автор самостоятельно проводил клиническое обследование пациентов и выполнял транзитную М- и XL-эластометрию печени. Лично автором сформирована база данных пациентов и проведена статистическая обработка полученных результатов, на основе чего сформулированы выводы исследования. Автор самостоятельно подготовил основные публикации по теме исследования и представил результаты работы на научно-практических конференциях. Все соавторы указаны в публикациях.

Степень достоверности полученных результатов и сделанных выводов определяется достаточным объёмом данных, применением современных методов исследования, соответствующих методологии, цели и задачам данной диссертационной работы, а также апробацией основных результатов исследования на научных конференциях и съездах.

Для выполнения поставленных задач были комплексно обследованы 99 пациентов. Диагноз ХГС и стадия фиброза печени в каждом случае были верифицированы в соответствии с рекомендациями Российской Ассоциации по Изучению Печени и Минздрава РФ от 2017 года. Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом (Протокол №11-18 Межвузовского Комитета по этике от 20.12.18, Москва).

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Профилактическая медицина – 2019»

(г. Санкт-Петербург, 2019), на Международном Конгрессе – 49-м Ежегодном собрании Европейской Ассоциации по изучению печени (г. Лондон, Великобритания, 2014), на XIX Ежегодном конгрессе "Гепатология сегодня" (г. Москва, 2014).

По теме диссертационной работы опубликовано 4 научных работы, в том числе 3 статьи – в ведущих рецензируемых научных журналах, входящих в перечень Высшей аттестационной комиссии Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Подано 2 заявки на патенты № RU2019145602 и № RU2019145603 от 30.12.2019 «Способ определения стадии фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С».

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в лечебно-диагностическую работу отделения гастроэнтерологии и отделения терапии клиники Петра Великого ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург) (акт внедрения от 20.01.2020), отделения терапии ГБУЗ СПб «Госпиталь для ветеранов войн» (г. Санкт-Петербург) (акт внедрения от 15.01.2020), сети медицинских центров «Медэлит» (г. Москва) (акт внедрения от 10.01.2020), а также в учебный процесс кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии им. С.М. Рысса ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург) (акт внедрения от 16.01.2020).

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, методология, результаты собственных исследований, обсуждение результатов), выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 120 страницах машинописного текста, иллюстрирована 23 таблицами, 4 рисунками и 2 клиническими примерами. Список литературы включает 117 источников, в том числе 21 отечественный и 96 иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. В исследование включено 99 пациентов с ХГС, обратившихся в медицинский центр «Медэлит» (г. Москва) с декабря 2018 по июнь 2019. Критерии включения: ХГС (ПЦР подтверждённый). Критерии не включения: отказ от участия в исследовании; возраст менее 18 и более 65 лет; беременность. Критерии исключения: коинфицированность вирусом гепатита В и/или ВИЧ; осложнения

цирроза (асцит, спонтанный бактериальный перитонит, рак печени, кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода в анамнезе); холедохолитиаз; противовирусная терапия ХГС на момент включения и/или закончившаяся менее чем за 6 месяцев до включения; кожно-капсульное расстояние (ККР) более 3,5 см.

У каждого пациента был собран анамнез, каждому проведено физикальное исследование, клинический анализ крови, УЗИ органов брюшной полости с доплерографией; транзитная эластометрия М–датчиком (ТЭ–М) и XL–датчиком (ТЭ–XL); анализ крови ФиброТест® (ФТ); пункционная биопсия печени (БП); соноэластография сдвиговой волной (СЭСВ).

Для перевода результатов ТЭ–М (кПа) в баллы METAVIR использовалась общепринятая шкала: $\leq 5,8$ кПа – F0; 5,9 - 7,2 кПа – F1; 7,3 - 9,5 кПа – F2; 9,6 - 12,5 кПа – F3; $\geq 12,6$ кПа – F4 (Лазебник Л.Б. и др., 2008; Тухбатуллин М.Г. и др., 2007; Castera L. et al., 2005). В виду отсутствия валидированных пороговых значений, для ТЭ–XL применялась та же система перевода по примеру предшествующих исследований (Poynard T. et al., 2016). Для СЭСВ использовались значения, приведённые в мета-анализе (Herrmann E. et al., 2018): 7,1 - 9,1 кПа – F2; 9,2 - 11,9 кПа – F3; $\geq 12,0$ кПа – F4. В связи с тем, что граница между F0 и F1 в этой системе не приводится, а значения для остальных стадий фиброза близки к значениям для ТЭ, было принято: $\leq 5,8$ кПа – F0; 5,9 - 7,0 кПа – F1.

Распределение пациентов по стадиям фиброза, установленным с помощью изучаемых методов, представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов по стадиям фиброза печени, установленным при помощи изучаемых методов (n=99)

Изучаемый метод	Стадии фиброза по шкале METAVIR									
	F0		F1		F2		F3		F4	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
ТЭ–М	45	45,5	20	20,2	10	10,1	10	10,1	14	14,1
ТЭ–XL	47	47,5	21	21,2	10	10,1	7	7,1	14	14,1
ФТ	36	36,4	13	13,1	23	23,2	10	10,1	17	17,2
БП	21	21,2	45	45,5	12	12,1	12	12,1	9	9,1
СЭСВ	35	35,4	30	30,3	13	13,1	12	12,1	9	9,1

Методы статистического анализа. В исследовании использовались стандартные методики статистического анализа с применением χ^2 -критерия Пирсона, парного td-критерия

достоверности разницы, S –коэффициента взаимной сопряжённости Пирсона, rs –коэффициента ранговой корреляции Спирмена, t –критерия корреляции Пирсона, множественного линейного регрессионного анализа, ROC–анализа. Разница считалась достоверной, если величина p составляла $<0,05$. Вычисления выполнены с помощью программного пакета Statistica, версия 12.6, (StatSoft) и XLSTAT (Addinsoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика пациентов. В исследование были последовательно включены 99 пациентов, соответствовавших критериям включения и не подпадавших под критерии исключения. Основные характеристики когорты: средний возраст $39,6 \pm 1,0$ года, мужчин – 59 чел. (59,6%); медианное значение индекса массы тела (ИМТ) $25,8 \text{ кг/м}^2$. Нормальная масса тела (ИМТ $18,5 - 24,9 \text{ кг/м}^2$) выявлена у 37 из 99 пациентов (37,4%); избыток массы тела (ИМТ $25,0 - 29,9$) у 46 из 99 (46,5%); ожирение 1 степени (ИМТ $30 - 34,9$) у 11 (11,1%); ожирение 2 степени (ИМТ $35 - 39,9$) у 3 (3,0%). Пациентов с ожирением 3 степени в когорте не было. У 2 из 99 пациентов (2,0%) был дефицит массы тела (ИМТ $<18,5$).

Распределение показало, что у 2 из 3 пациентов с ожирением 2 степени был выявлен ЦП (F4), у 1 – выраженный фиброз (F3). У пациентов с дефицитом массы тела установлены стадии F0 и F2. Среди пациентов со стадией F0 преобладали пациенты с нормальной массой тела, с F2 и F3 – пациенты с избыточной массой тела, с F1 и F4 количества пациентов с нормальной и избыточной массой тела были равными. Пациенты с ожирением 1 степени встречались равномерно на всех стадиях. Анализ распределения позволил заключить, что ИМТ не может выступать в качестве вспомогательного индикатора фиброза, в связи с отсутствием отчётливой корреляции.

Клинические признаки и синдромы у пациентов в когорте включали в себя: астенический синдром в 48 из 99 случаев (48,5%), синдром диспепсии в 28 из 99 случаев (28,3%), абдоминальный болевой синдром в 17 из 99 случаев (17,2%), пальмарную эритему в 14 из 99 случаев (14,1%), сухость кожи в 14 из 99 случаев (14,1%), телеангиэктазии в 11 из 99 случаев (11,1%), гепатомегалию в 8 из 99 случаев (8,1%), спленомегалию в 6 из 99 случаев (6,1%), гиперпигментацию кожи голеней в 6 из 99 случаев

(6,1%), алопецию в 6 из 99 случаев (6,1%), желтуху в 4 из 99 случаев (4,0%), атрофию сосочков языка в 4 из 99 случаев (4,0%). У 25 из 99 пациентов (25,3%) заболевание было бессимптомным (рисунки 1 и 2).

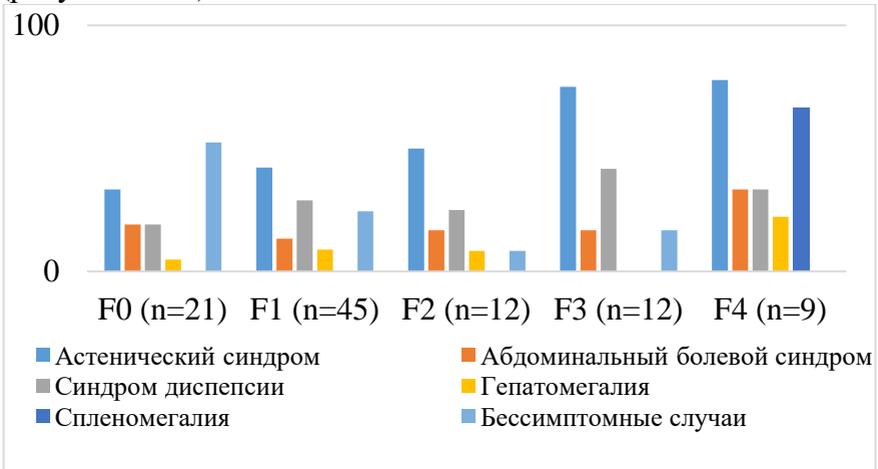


Рисунок 1 – Распределение пациентов в зависимости от клинических проявлений и стадии фиброза (по данным БП)

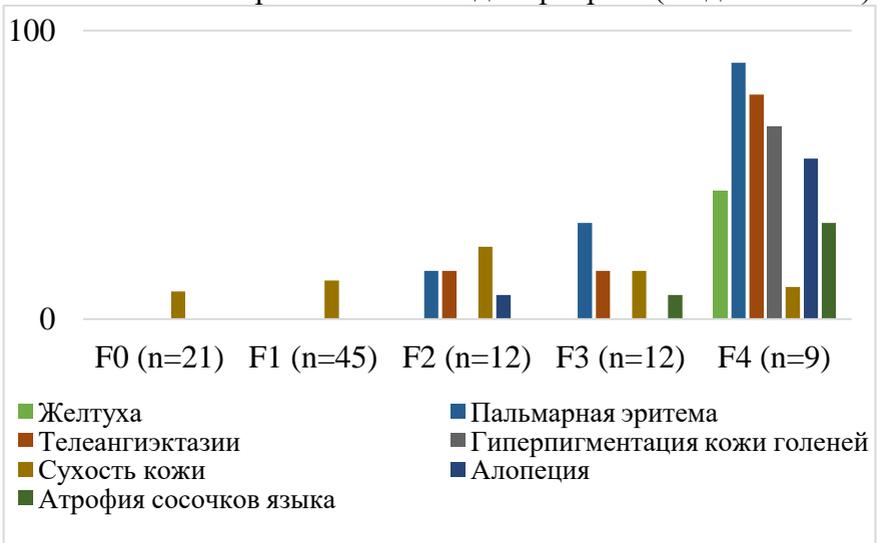


Рисунок 2 – Распределение пациентов в зависимости от клинических проявлений и стадии фиброза (по данным БП)

В зависимости от частоты встречаемости на разных стадиях фиброза клинические проявления были объединены в группы: (1) встречавшиеся исключительно при ЦП: желтуха, спленомегалия и

гиперпигментация кожи голеней; (2) встречавшиеся на стадии выраженного фиброза и ЦП (F3 и F4): атрофия сосочков языка; (3) встречавшиеся на различных стадиях фиброза с недостоверно большей частотой на более высоких стадиях: астенический синдром, абдоминальный болевой синдром, синдром диспепсии, сухость кожных покровов, алопеция, гепатомегалия; (4) случаи без клинических проявлений, встречавшиеся на стадиях F0, F1, F2 и F3. Бессимптомных случаев ЦП (F4) не наблюдалось.

Из анализа следует, что клинические проявления групп 1-3 могут выступать вспомогательными индикаторами в окончательном определении стадии фиброза. Отсутствие каких-либо проявлений может выступать в роли фактора, свидетельствующего не в пользу ЦП ($\chi^2=18,926$, $p<0,05$).

Цитолиз различной степени выраженности выявлялся у большинства пациентов когорты: в 76 из 99 случаев (76,8%). Корреляция степени цитолиза (по уровню АЛТ) со стадией фиброза была слабой ($r=0,28$; $p=0,005$), что не позволило рассматривать активность АЛТ в качестве вспомогательного индикатора при окончательном определении стадии фиброза.

Распределение пациентов по стадиям фиброза в зависимости от метода диагностики и анализ выраженности и причин расхождений результатов. Распределение пациентов по стадиям фиброза варьировало в зависимости от метода диагностики: количество случаев стадии F0 колебалось в пределах от 21 из 99 (21,2%) (БП) до 47 из 99 (47,5%) (ТЭ–ХЛ); стадии фиброза F1 – от 13 из 99 (13,1%) (ФТ) до 45 из 99 (45,5%) (БП) и т.д. (таблица 1). Полное совпадение результатов наблюдалось в 12 из 99 случаев (12,1%). В остальных случаях (87,9%) отмечались расхождения результатов. По принципу совпадения когорты разделилась на 2 группы: группа согласованности (45 из 99 случаев, 45,5%), объединявшая подгруппы с совпадением 5 из 5 и 4 из 5 результатов; и группа несогласованности (54 из 99 случаев, 54,5%), объединявшая подгруппы с совпадением 3 из 5 и 2 из 5 результатов.

По амплитуде расхождений (ΔF) когорты была разделена на две части: группа приближенных совпадений (57 из 99 случаев, 57,6%), в которой ΔF не превышала одну стадию фиброза ($\Delta F \leq 1$) и группа клинически значимых расхождений (42 из 99 случаев, 42,4%), в которой $\Delta F \geq 2$.

Анализ однородности описанных групп выявил отсутствие их отличий по антропометрическим характеристикам, лабораторным показателям ($p > 0,05$ для всех признаков по критериям Манна-Уитни и Уилкоксона) и большинству клинических признаков за исключением спленомегалии и гиперпигментации кожи голеней ($\chi^2 = 4,706$, $p < 0,05$ для каждого из признаков).

Спленомегалия и гиперпигментация голеней встречались у 6 пациентов, 4 из которых вошли в группу «5 из 5» (все результаты F4 – ЦП), а оставшиеся 2 – в группу «4 из 5» с $\Delta F \leq 1$ (четыре метода F4, один – F3). Таким образом, спленомегалия и гиперпигментация голеней выступили признаками, ассоциированными с высокой степенью согласованности результатов диагностики при ЦП.

Анализ однородности групп, продемонстрировав отсутствие влияния антропометрических характеристик, лабораторных показателей и клинических признаков на варибельность результатов диагностики фиброза исследуемыми методами, привёл к заключению о том, что на варибельность могут влиять особенности самих методов или скрытые факторы, не подвергавшиеся анализу в рамках настоящей работы.

Результаты попарного анализа при выявлении различных стадий фиброза и цирроза печени и выявление методов, обуславливающих варибельность результатов. Анализ эффективности методов при разграничении наличия фиброза (F1 – F4) от его отсутствия (F0) показал, что с помощью БП выявлено наименьшее число случаев F0 (21 из 99 случаев, 21,2%) по сравнению с остальными методами ($\chi^2 = 12,80$; $p < 0,05$; $\chi^2 = 14,38$; $p < 0,05$; $\chi^2 = 6,25$; $p < 0,05$; $\chi^2 = 9,33$; $p < 0,05$ для пар «БП – ТЭ–М», «БП – ТЭ–XL», «БП – ФТ», «БП – СЭСВ» соответственно). Достоверных отличий при разграничении отсутствия фиброза от его наличия среди остальных методов выявлено не было ($p > 0,05$ для χ^2 во всех парах с участием ТЭ–М, ТЭ–XL, СЭСВ, ФТ), что позволило предположить гипердиагностический потенциал БП при установлении наличия фиброза.

Анализ эффективности методов в разграничении наличия ЦП (F4) от его отсутствия (F0 – F3) привёл к их разделению на две подгруппы: №1, включающая ФТ, ТЭ–М, ТЭ–XL (17 (17,2%); 14 (14,1%) и 14 (14,1%) из 99 случаев выявления ЦП соответственно) и №2, состоящая из БП и СЭСВ (по 9 (9,1%) из 99 случаев).

Наибольшее количество случаев ЦП выявлено при помощи ФТ (17,2%), что достоверно отличается от частоты выявления ЦП посредством методов из подгруппы №2 – БП (9,1%) и СЭСВ (9,1%) ($td=2,18$; $p<0,05$). Это позволило предположить наличие у ФТ гипердиагностического потенциала при диагностике ЦП.

Для проверки гипер- и/или гиподиагностического потенциала был проведён попарный анализ расхождений, с помощью которого для каждого метода рассчитывался диагностический ранг, отражающий степень рассогласованности с другими методами в зависимости от количества случаев расхождения результатов.

При разграничении фиброза (F1 – F4) от его отсутствия (F0) максимальное количество расхождений проявляла БП: 144 случая, ранг 5 ($p<0,05$, ($\chi^2=8,74$; 5,78; 4,00 для пар «ТЭ–М – БП»; «ТЭ–XL – БП»; «ФТ – БП» соответственно); минимальное – ТЭ–М (98 случаев, ранг 1). В результате анализа расхождений установлено, что при разграничении наличия ЦП от его отсутствия методом с наибольшим числом расхождений оказался ФТ: 60 случаев, ранг 4 ($p<0,05$, $\chi^2=10,80$; 10,80; 10,00; 11,64 для пар «ФТ – ТЭ–М», «ФТ – ТЭ–XL», «ФТ – БП», «ФТ – СЭСВ» соответственно); а с минимальным – СЭСВ (28 случаев, ранг 1).

Методом с минимальным количеством расхождений результатов по всему спектру шкалы METAVIR оказалась ТЭ–М (179 случаев, ранг 1); с максимальным количеством расхождений – ФТ и БП (по 233 случая, ранг 4). Промежуточные ранги получили ТЭ–XL (ранг 2), СЭСВ (ранг 3), недостоверно отличаясь от лидера по этому показателю ($p>0,05$, $\chi^2=0,01$; 1,89 для пар «ТЭ–М – ТЭ–XL» и «ТЭ–М – СЭСВ» соответственно).

Таким образом был подтверждён гипердиагностический потенциал БП при разграничении наличия фиброза от его отсутствия, гипердиагностический потенциал ФТ при разграничении наличия ЦП от его отсутствия, и высокая согласованность результатов ТЭ–М при выявлении всех стадий фиброза. При выявлении ЦП лидером по согласованности оказалась СЭСВ (ранг 1), следом за которой расположились ТЭ–М и ТЭ–XL (оба метода – ранг 2).

Анализ амплитуды расхождений и силы корреляции результатов. По количеству клинически значимых расхождений ($\Delta F \geq 2$) пары методов распределились на три группы:

1. Группа максимальной конкордантности, состоящая из одной пары «ТЭ–М – ТЭ–XL» с $\Delta F \geq 2$ в 2 из 99 случаев (2,0%).
2. Группа умеренной дискордантности, состоящая из пар «ТЭ–М – СЭСВ», «ТЭ–М – БП», «ТЭ–XL – СЭСВ», «ТЭ–XL – БП», «СЭСВ – БП» с $\Delta F \geq 2$ в 6 (6,1%), 7 (7,1%), 8 (8,1%), 9 (9,1%) и 10 (10,1%) из 99 случаев соответственно.
3. Группа максимальной дискордантности, состоящая из пар «ФТ – БП», «ФТ – ТЭ–М», «ФТ – СЭСВ» и «ФТ – ТЭ–XL» с $\Delta F \geq 2$ в 17 (17,2%), 25 (25,3%), 26 (26,3%) и 27 (27,3%) из 99 случаев соответственно.

Во все пары группы №3 входил ФТ, обуславливая максимальное количество случаев клинически значимых расхождений (χ^2 , $p < 0,05$ по сравнению с группой № 1 и № 2) и максимальную амплитуду расхождений в 4 стадии фиброза, не встречавшуюся в других парах.

Оценка силы корреляции при попарном сравнении показала, что наибольшая корреляция наблюдалась в паре «ТЭ–М – ТЭ–XL» ($\chi^2 = 171,9$; $p < 0,0001$; $C = 0,80$; $p < 0,001$; $r_s = 0,88$; $p < 0,001$), самая слабая корреляция зафиксирована во всех парах с участием ФТ ($\chi^2 = 41,9 - 51,5$; $C = 0,55 - 0,59$).

Таким образом, несколько независимых видов анализа (анализ частоты, анализ амплитуды расхождений и силы корреляции) продемонстрировали наибольшую, в сравнении с остальными методами, подверженность ФТ риску ложных результатов.

Выявленные на этом этапе закономерности привели к идее о необходимости применения такого подхода, при котором для постановки окончательного диагноза стадии фиброза учитывались бы все результаты диагностики в комплексе с клинико-лабораторными проявлениями и диагностируемой стадией фиброза. В качестве такого метода была выбрана ЭО.

Экспертная оценка и результаты ROC-анализа при определении фиброза печени. При «неидеальном» золотом стандарте, каковым при диагностике фиброза признана БП, для оценки и сравнения диагностической эффективности различных методов современной биостатистической наукой рекомендуется использовать виртуальный референсный стандарт (РС), конструируемый с помощью анализа латентных классов (статистический метод) или экспертной оценки (ЭО) (аналитический метод). В настоящей работе применена ЭО,

проводившаяся в строгом соответствии с разработанным алгоритмом, позволяющим избежать предвзятости. В этом алгоритме использовались индикаторы, установленные в ходе всех видов анализа, проведённых до этапа ЭО. В результате проведения ЭО каждому пациенту устанавливалась стадия фиброза, принимаемая референсной при расчёте чувствительности и специфичности изучаемых методов. ROC–анализ (таблица 2) продемонстрировал, что вне зависимости от применявшегося РС методами с наилучшими диагностическими характеристиками были ТЭ–М, ТЭ–XL, СЭСВ, а ФТ оказался методом с самыми низкими показателями. Таким образом, результаты ROC–анализа совпадают с результатами предыдущих видов анализа и подтверждают целесообразность применения ТЭ–М, ТЭ–XL и СЭСВ в качестве оптимальной неинвазивной комбинации.

Математическая модель совокупной оценки результатов диагностики фиброза печени. Для упрощения конструирования РС, сопоставимого по точности с ЭО, с помощью множественного линейного регрессионного анализа была разработана математическая модель, представленная в виде формулы:

$$F_{PC} = -0,037 + 0,187 \times (F_M) + 0,339 \times (F_{XL}) + 0,101 \times (F_{FT}) + 0,304 \times (F_{BP}) + 0,104 \times (F_{СЭСВ}) \quad (1)$$

где F_{PC} – результирующая стадия фиброза по шкале METAVIR, рассчитанная при помощи множественного регрессионного анализа; F_M – стадия фиброза, установленная ТЭ–М; F_{XL} – ТЭ–XL; F_{FT} – ФТ; F_{BP} – БП; $F_{СЭСВ}$ – СЭСВ.

Полученный с применением формулы (1) результат подлежит математическому округлению к ближайшему целому. Полученное целое число от 0 до 4 соответствует результирующей стадии фиброза от F0 до F4. Результаты формулы (1) в высокой степени соответствовали результатам ЭО ($R^2=0,93$; $F=255,16$; $p<0,0001$), что свидетельствует о высоком качестве разработанной модели (заявка на патент №RU2019145603 от 30.12.2019).

При использовании комбинации ТЭ–М, ТЭ–XL, СЭСВ, несмотря на высокую эффективность каждого отдельно взятого метода, возможна рассогласованность их результатов. Для быстрого и точного определения фиброза, основанного на совокупной оценке результатов комбинированной диагностики, во избежание применения сложных многоэтапных алгоритмов, была разработана другая математическая модель (формула (2)).

$$F_{PC} = 0,237 + 0,299 \times (F_M) + 0,453 \times (F_{XL}) + 0,157 \times (F_{СЭСВ}) \quad (2)$$

Модель применима при любом типе и амплитуде расхождений результатов, а расчётный результат отражает наиболее точный диагноз фиброза (заявка на патент №RU2019145602 от 30.12.2019).
Таблица 2 – Диагностические характеристики изученных методов при использовании в качестве РС БП и ЭО

Стадия	Метод	БП			ЭО		
		AUC	Чув., %	Спец., %	AUC	Чув., %	Спец., %
F _{≥1}	ТЭ-М	0,679	65,4	71,4	0,972	94,3	91,3
	ТЭ-XL	0,726	59,0	81,0	0,964	90,6	91,3
	ФТ	0,737	61,5	90,5	0,806	81,1	73,9
	СЭСВ	0,660	37,2	95,2	0,907	88,7	71,7
	БП	1,000	100	100	0,832	92,5	37,0
F _{≥2}	ТЭ-М	0,944	81,8	93,9	0,981	93,8	94,0
	ТЭ-XL	0,911	72,7	98,5	0,967	90,6	97,0
	ФТ	0,847	87,9	72,7	0,873	75,0	80,6
	СЭСВ	0,904	84,9	84,9	0,957	84,4	91,0
	БП	1,000	100	100	0,937	90,6	94,0
F _{≥3}	ТЭ-М	0,966	95,2	92,3	0,994	95,5	96,1
	ТЭ-XL	0,964	90,5	94,9	0,987	90,9	97,4
	ФТ	0,875	95,2	65,4	0,870	63,6	84,4
	СЭСВ	0,924	81,0	94,9	0,961	86,4	97,4
	БП	1,000	100	100	0,990	90,9	98,7
F=4	ТЭ-М	0,980	100	93,3	0,995	92,3	97,7
	ТЭ-XL	0,979	100	94,4	0,994	100	98,8
	ФТ	0,875	77,8	87,8	0,874	38,5	93,0
	СЭСВ	0,978	100	96,7	0,996	92,3	100
	БП	1,000	100	100	0,964	69,2	100

Примечание: AUC – площадь под ROC-кривой, Чув. – чувствительность, Спец. – специфичность

Для математической модели (формула 2) диагностические характеристики тем выше, чем выше диагностируемая стадия фиброза (AUC, чувствительность и специфичность составляют 0,959, 98,1%, 82,6%; 0,977, 93,8%, 94,0%; 0,990, 90,9%, 98,7%; 0,996, 92,3%, 100,0% при выявлении F1, F2, F3 и F4 соответственно) и превосходят характеристики каждого отдельно взятого метода, входящего в комбинацию.

ВЫВОДЫ

1. Клинические проявления могут выступать в роли вспомогательных индикаторов фиброза при условии комплексной оценки вместе с другими диагностическими параметрами в рамках многофакторной модели построения диагноза. Наибольшую диагностическую значимость клинические признаки показали при оценке вероятности цирроза печени: спленомегалия и гиперпигментация кожи голени являются вспомогательными индикаторами цирроза печени ($\chi^2=4,706$, $p<0,05$); отсутствие каких-либо клинических проявлений – вспомогательным индикатором отсутствия ЦП ($\chi^2=18,926$, $p<0,05$).
2. Изученные антропометрические характеристики пациентов, клинические проявления заболевания и лабораторные показатели не могут рассматриваться в качестве факторов риска вариабельности результатов при диагностике фиброза. Вариабельность зависит от применяемых методов и выявляемой стадии фиброза: фибротест демонстрирует максимальную вариабельность при диагностике всех стадий фиброза, биопсия печени – при разграничении наличия фиброза ($F\geq 1$) от его отсутствия ($F=0$).
3. Экспертная оценка, проводимая в соответствии с разработанным алгоритмом, является новым, высокоинформативным и применимым подходом для расчёта диагностической эффективности различных методов определения фиброза.
4. Оптимальной комбинацией неинвазивных методов для диагностики фиброза печени является сочетание M–эластометрии, XL–эластометрии и соноэластографии сдвиговой волной.
5. Способ расчётного определения стадии фиброза, совокупно учитывающий результаты M–эластометрии, XL–эластометрии и соноэластографии сдвиговой волной, является надёжным, легко воспроизводимым и эффективным решением задачи повышения точности диагностики фиброза в клинической практике.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для точной диагностики фиброза печени при ХГС предпочтение следует отдавать использованию комбинации

трёх неинвазивных методов: М–эластометрии, XL–эластометрии и соноэластографии сдвиговой волной (приоритетная диагностическая панель). В случае расхождения результатов М–эластометрии, XL–эластометрии и соноэластографии у одного пациента, вне зависимости от количества совпадений и несовпадений результатов, а также амплитуды их расхождений, необходимо использовать Формулу (2). Полученный результат рассматривать в качестве действительной стадии фиброза (окончательного диагноза) у рассматриваемого пациента.

$$F_{PC} = 0,237 + 0,299 \times (F_M) + 0,453 \times (F_{XL}) + 0,157 \times (F_{CЭСВ}) \quad (2)$$

2. При диагностике фиброза у пациентов с ХГС в случае применения М–эластометрии, фибротеста и биопсии печени и несовпадении хотя бы одного из результатов, вне зависимости от амплитуды их расхождений, следует дополнительно провести XL–эластометрию и соноэластографию сдвиговой волной. Действительной стадией фиброза (окончательным диагнозом) следует считать результат, полученный после введения значений всех пяти методов в Формулу (1):

$$F_{PC} = -0,037 + 0,187 \times (F_M) + 0,339 \times (F_{XL}) + 0,101 \times (F_{ФТ}) + 0,304 \times (F_{БП}) + 0,104 \times (F_{CЭСВ}) \quad (1)$$

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В качестве дальнейшей разработки темы исследования может выступать адаптация и валидация предложенного алгоритма для диагностики фиброза при других диффузных заболеваниях печени. Кроме того, перспективным представляется поиск новых комбинаций неинвазивных методов с применением разработанной модели для повышения точности диагностики фиброза печени. Также в качестве перспективы можно рассматривать поиск альтернативных путей конструирования референсного стандарта. В том числе с применением анализа латентных переменных, например, модели Раша.

СПИСОК НАУЧНЫХ ТРУДОВ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Галушко, М.Ю. Сравнительный анализ диагностики фиброза печени методом М– XL–эластометрии у пациентов с хроническим гепатитом С / М.Ю. Галушко, И.Г. Бакулин, А.И. Тимохина // Фарматека. –2016. – №55. – С. 40–47.

2. **Соноэластография сдвиговой волной в оценке фиброза печени / М.Ю. Галушко, А.Ю. Ищенко И.Г. Бакулин, [и др.] // Профилактическая и клиническая медицина. – 2019. – № 2 (71). – С. 35 – 39.**
3. **Способы оценки эффективности неинвазивных методов диагностики фиброза печени в подходе без «золотого» стандарта: прощание с биопсией печени? / М.Ю. Галушко, А.Ю. Ищенко, С.А. Поздняков [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. – № 10(170). – С. 4 – 11.**
4. **P1322 Real-time shear-wave elastography (SWE, Aixplorer™) performances in chronic hepatitis C (CHC) patients compared to liver stiffness measurement (LSM, FibroScan™) and FibroTest™ with liver biopsy (LB) as reference / M. Galushko, I. Bakulin, M. Munteanu [et al.] // Journal of Hepatology. – 2014. – Т. 60, № 1. – S536.**