

Dariusz Marek Lebensztejn

ODWRACALNOŚĆ ZAAWANSOWANEGO WŁÓKNIENIA WĄTROBY – MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE I BIOCHEMICZNE MONITOROWANIE PROCESU CHOROBOWEGO

III Klinika Chorób Dzieci Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik Kliniki: Maciej Kaczmarek

Badania doświadczalne jak i kliniczne potwierdziły możliwość zahamowania a nawet zmniejszenia zasięgu zaawansowanego włóknienia wątroby poprzez usunięcie czynnika sprawczego i stosowanie preparatów farmakologicznych o potencjalnym działaniu antyfibrotycznym. Biochemiczne monitorowanie jego przebiegu i ewentualnych zmian wywołanych leczeniem jest możliwe dzięki ocenie elementów macierzy pozakomórkowej (ECM), a także paneli parametrów biochemicznych nienależących do ECM.

Słowa kluczowe: wątroba, włóknienie, marskość, diagnostyka, leczenie
Key words: liver, fibrosis, cirrhosis, diagnostics, treatment

WSTĘP

Włóknienie wątroby jest procesem chorobowym, charakteryzującym się nadmiernym i zaburzonym gromadzeniem elementów macierzy pozakomórkowej (ECM), który jest wynikiem zaburzeń dynamicznej równowagi pomiędzy ich syntezą (fibrogenezą) a degradacją (fibrolizą). Proces ten jest odpowiedzią na przewlekłe uszkodzenie wątroby wywołane różnymi przyczynami np. zakażeniem wirusami hepatotropowymi (głównie HCV i HBV), nadmiernym spożyciem alkoholu etylowego, pasożytami, autoimmunologicznymi lub metabolicznymi schorzeniami wątroby. Gromadzenie się nadmiernej ilości elementów tkanki łącznej w przestrzeniach Dissego, które inicjuje rozwój włóknienia, jest z klinicznego punktu widzenia najwcześniejszą manifestacją patologii wątroby, prowadzącej do marskości i rozwoju niewydolności tego narządu.

Włóknienie wątroby nie jest synonimem marskości; jest jednak jej podstawowym elementem. Wg *Knapika* (1) marskość jest procesem chorobowym charakteryzującym się bezładną guzkowatą przebudową mięszu wątrobowego z wytworzeniem blizn w miejscu zniszczonych elementów komórkowych i powstaniem zmian w układzie naczyniowym oraz następczą dezorganizacją zrazikowej struktury narządu.

Do niedawna zaawansowane włóknienie, jak również jego ostatnie stadium tj. marskość wątroby, uważano za nieodwracalne. Badania doświadczalne jak i kliniczne sugerują jednak możliwość zahamowania oraz zmniejszenia zasięgu włóknienia wątroby, a nawet cofania się zmian marskich.

Wpływ czynnika naruszającego integralność komórek wątrobowych doprowadza do uruchomienia kaskady mechanizmów prowadzących do aktywacji, zlokalizowanych głównie w przestrzeniach Dissego, wątrobowych komórek gwiaździstych (HSC) i ich transformacji do miofibroblastów, produkujących największe ilości elementów ECM w uszkodzonej wątrobie (fibrogenaza) (2). Badania na zwierzętach wykazały, że miofibroblasty giną na drodze apoptozy, przerywając w ten sposób dalsze gromadzenie składników ECM; jednocześnie zmniejsza się ekspresja tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMPs), co powoduje uaktywnienie metaloproteinaz (MMPs) i resorbcję produktów fibrogenazy. Inną sugerowaną możliwością wstecznych przemian jest zwrotna przemiana miofibroblastów do HSC prawdopodobnie przy udziale IL-10 (3).

MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE ZAAWANSOWANEGO WŁÓKNIENIA WĄTROBY

Podstawowym sposobem zmniejszenia zaawansowania włóknienia wątroby jest usunięcie czynnika sprawczego np. eliminacja zakażenia wirusami hepatotropowymi, przerwanie ekspozycji na alkohol lub substancje hepatotoksyczne czy usunięcie przyczyny cholestazy. Nie jest do końca ustalone, w którym momencie zaawansowane włóknienie (czy też marskość wątroby) jest już procesem nieodwracalnym. Wg *Friedmana* (4) czynniki potencjalnie wpływające na nieodwracalność procesu chorobowego to:

1) długi czas trwania procesu chorobowego sprzyjający tworzeniu trwałych wiązań pomiędzy cząsteczkami kolagenów, co zmniejsza możliwość ich degradacji przez metaloproteinazy,

2) nadmierna całkowita ilość kolagenów i innych składników ECM w wątrobie, co również powoduje niemożność ich całkowitej enzymatycznej degradacji,

3) zaburzona równowaga dynamiczna pomiędzy aktywnością metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów – zmniejszenie aktywności MMPs i/lub zwiększenie aktywności TIMPs będzie skutkowało nadmiernym tworzeniem elementów ECM i nieodwracalnością procesu chorobowego.

Kazuistyczne doniesienia dotyczą odwracalności marskości wątroby u pacjentów przewlekle zakażonych HBV leczonych lamiwudyną (5-7); sporadyczne przypadki cofnięcia się marskości wątroby opisano również u przewlekle zakażonych HCV leczonych interferonem alfa z lub bez rybawiryny (8,9). Opisy przypadków regresji zaawansowanego włóknienia i marskości wątroby dotyczą nie tylko chorych przewlekle zakażonych wirusami hepatotropowymi. *Kaplan* i wsp. (10) wykazali regresję pierwotnej marskości żółciowej po leczeniu preparatem kwasu ursodezoksycholowego. Wykazano również odwracalność marskości wątroby u pacjentów z autoimmunologicznym zapaleniem wątroby leczonych kortykosteroidami (11), a także u chorych po chirurgicznym odbarczeniu dróg żółciowych (12).

Pomimo coraz większej liczby doniesień dotyczących odwracalności zaawansowanego włóknienia i marskości wątroby, problem nadal pozostaje kontrowersyjny, co wynika z ograniczonej możliwości pewnego rozpoznania choroby, braku definicji odwracalności marskości i z braku kontrolowanych badań przeprowadzonych na reprezentatywnym materiale klinicznym. Rozpoznanie zaawansowanego włóknienia wątroby (włóknienie przeszłowe z/lub bez zaburzeń architektiki narządu) czy też marskości wymaga wnikliwej oceny

morfologicznej biopsji wątroby. Granica między powyższymi stopniami oceny morfologicznej jest często trudna do właściwego określenia (mało reprezentatywny biopiat, różnice śród- i międzyobserwacyjne), co może powodować niezbyt precyzyjną ocenę procesu chorobowego, a w szczególności marskości, utrudniając właściwą ocenę potencjalnej regresji tego procesu chorobowego (13).

Terminologia marskości nie jest ponadto jednolita co stwarza dodatkowe trudności interpretacyjne: wyróżnia się marskość aktywną (*active cirrhosis*) i nieaktywną (*inactive cirrhosis*), wczesną i dokonaną (*early, fully developed cirrhosis*), drobnoguzkową (*micro-nodular*), wielkoguzkową (*macronodular*), mieszaną (*mixed micro-macronodular*) oraz niepełną marskość przegrodową (*incomplete septal cirrhosis*) (14).

Niektórzy autorzy twierdzą, że marskość przegrodowa jest formą cofania się procesu chorobowego wątroby (14). Po usunięciu czynnika sprawczego choroby i zmniejszeniu procesu martwiczo-zapalnego wątroby *Fauerhold* i wsp. (15) wykazali ponadto przemianę marskości drobnoguzkowej w wielkoguzkową, która jest szczególnie trudna do pewnego zdiagnozowania w biopsji wątroby (13). Z powodu trudności interpretacyjnych badania morfologiczne *Gabriel* i wsp. (16) sugerują, że marskość jako rozpoznanie ostateczne powinno być stosowane w przypadku co najmniej dwukrotnego pobrania materiału w różnym czasie lub pobrania materiału z dwóch różnych miejsc narządu.

W wielu jednak przypadkach leczenie przyczynowe zaawansowanego włóknienia i marskości wątroby nie powoduje regresji procesu chorobowego, dlatego też przeprowadzane są liczne badania eksperymentalne dotyczące zastosowania różnych preparatów farmakologicznych, wykazujących właściwości antyfibrotyczne, poprzez hamowanie transformacji HSC do miofibroblastów, pobudzanie aktywności MMPs powodujących degradację składników ECM lub wpływ na proces apoptozy.

Najnowsze badania eksperymentalne sugerują możliwość terapeutycznego wykorzystania do hamowania procesów włóknienia wątrobowego m. in. antagonistów receptorów endoteliny A (17), a także cyklicznych peptydów kolagenu typu VI (18), rapamycyny (19), gliotoksyny (20), trichostatyny A (21) kariporidu (22), terapii genowej (23) czy komórek macierzystych (24). Niezbędne są dalsze badania eksperymentalne i kliniczne, które wykażą czy powyższe próby hamowania i spowodowania regresji włóknienia wątrobowego zakończą się sukcesem i doprowadzą do produkcji preparatów farmakologicznych stosowanych w praktyce klinicznej.

MONITOROWANIE BIOCHEMICZNE LECZENIA ANTYFIBROTYCZNEGO

Pomimo że nadal „złotym standardem” w ocenie zaawansowania włóknienia jest badanie morfologiczne biopsji wątroby, jest to zawsze procedura inwazyjna obciążona możliwością wystąpienia powikłań oraz statycznym ujęciem problemu patologii narządu. Dlatego też podejmowane są próby oceny tego procesu badaniami biochemicznymi w surowicy krwi, które są mniej inwazyjne, a jednocześnie stwarzają możliwość długotrwałego monitorowania jego przebiegu i ewentualnych zmian wywołanych leczeniem. Wg *Schuppana* i wsp. (25) idealny surowiczy marker włóknienia wątroby powinien oceniać albo proces fibrogenyzy albo fibrolizy, odzwierciedlać stopień włóknienia (ilość ECM) lub przebieg procesu przebudowy architektonicznej w kierunku marskości. Narzędowa specyficzność oraz łatwość wykonania badania (metodą ELISA) powinny cechować taki wskaźnik.

Biologiczny okres półtrwania badanego antygeny ECM winien być niezależny od wydzielania nerkowego i żółciowego, a także od wychwytu przez nablonek sinusoidów wątroby, chociaż wiadomo, że tego typu procesy są często zaburzone w przewlekłych chorobach tego narządu. Niestety, żaden ze znanych markerów włóknienia wątroby nie spełnia w pełni wymienionych powyżej kryteriów.

Najczęściej badanymi markerami włóknienia wątroby w surowicy krwi, korelującymi ze stopniem włóknienia, wchodzącymi w skład ECM były: kolageny (N końcowy propeptyd prokolagenu typu III-go – PIIINP, kolagen typu IV), glikozaminoglikany (kwas hialuronowy), glikoproteiny (laminina), MMPs, TIMPs oraz cytokiny (TGF beta1) oznaczane pojedynczo lub w panelu przy użyciu automatycznych analizatorów biochemicznych (25,26).

Innym badanym biochemicznym markerem włóknienia wątroby była glikoproteina YKL-40 (27), a także panele badań biochemicznych: FibroTest (apolipoproteina, haptoglobina, alfa 2 makroglobulina, bilirubina, GGTP) (28), wskaźnik APRI (AspAT, liczba płytek) (29), wskaźnik *Forns*a (liczba płytek, GGTP, cholesterol, wiek) (30); jednak ich przydatność w diagnostyce i monitorowaniu terapii antyfibrotycznej nie została jednoznacznie ustalona.

Istotny postęp w diagnostyce i terapii spowodował, że udowodniono cofanie się procesu włóknienia wątroby, jednak odwracalność marskości tego narządu pozostaje nadal sprawą dyskusyjną. Niezbędne są dalsze badania preparatów o działaniu antyfibrotycznym, a także ustalenie właściwego panelu badań biochemicznych w celu lepszego monitorowania potencjalnej regresji procesu chorobowego.

DM Lebensztejn

THE REVERSIBILITY OF ADVANCED LIVER FIBROSIS – THE THERAPEUTIC POSSIBILITY AND BIOCHEMICAL MONITORING OF THE DISEASE

SUMMARY

The advanced liver fibrosis and cirrhosis had been regarded irreversible until quite lately. However, experimental and clinical studies confirmed possibility of stopping or even decreasing the stage of liver fibrosis through causal factor elimination and application of pharmacological preparation of potential antifibrotic activity.

The morphological examination of liver biopate is a „gold standard” in assessment of liver fibrosis stage. However it is an invasive procedure and has several limitation such as „sampling error”. Therefore several biochemical blood tests for liver fibrosis have been evaluated which are less invasive and give possibility of long-term monitoring of the course of disease and possible changes caused by treatment. The non-invasive markers of liver fibrosis include extracellular matrix components (ECM) as well as non-ECM biochemical panels (FibroTest, Forns index, APRI).

Significant progress in diagnostics and treatment confirmed the reversibility of liver fibrosis. However, reversibility of cirrhosis still becomes controversial. Further investigations of antifibrotic drugs and settlement of proper biochemical blood panel for better monitoring of possible disease regression are needed.

PIŚMIENNICTWO

1. Knapik Z. Marskość wątroby. W: Brzozowski R, red. Choroby wątroby i dróg żółciowych. Warszawa: PZWL; 1991:298.
2. Milani S, Herbst H, Schuppan D, i in. Cellular sources of extracellular matrix protein in normal and fibrotic liver. Studies of gene expression by in situ hybridization. *J Hepatol* 1995;22: (suppl.2):71-6.
3. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, i in. Mechanism of spontaneous resolution of rat liver fibrosis: hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998;102:538-49.
4. Friedman SL. Liver fibrosis – from bench to bedside. *J Hepatol* 2003;38:38-53.
5. Wanless IR, Nakashima E, Sherman M. Regression of human cirrhosis. Morphologic features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1599-1607.
6. Malekzadeh R, Mohamadnejad M, Rakhshani N, i in. Reversibility of cirrhosis in chronic hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:344-7.
7. Massarrat S, Fallahzad V, Kamalian N. Clinical, biochemical and imaging-verified regression of hepatitis B-induced cirrhosis. *Liver Int* 2004;24:105-9.
8. Dufour JF, DeLellis R, Kaplan MM. Regression of hepatic fibrosis in hepatitis C with long term interferon treatment. *Dig Dis Sci* 1998;43:2573-6.
9. Pol S, Carnot F, Nalpas B, i in. Reversibility of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hum Pathol* 2004;35:107-12.
10. Kaplan MM, DeLellis R, Wolfe HJ. Sustained biochemical and histologic remission of primary biliary cirrhosis in response to medical treatment. *Ann Intern Med* 1997;126:682-8.
11. Cotler SJ, Jakate S, Jensen DM. Resolution of cirrhosis in autoimmune hepatitis with corticosteroid therapy. *J Clin Gastroenterol* 2001;32:428-30.
12. Hammel P, Couvelard A, O'Toole D, i in. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. *N Eng J Med* 2001;344: 418-23.
13. Desmet VJ, Roskams T. Reversal of cirrhosis: evidence-based medicine? *Gastroenterology* 2003; 125:629-30.
14. Geller SA. Coming or going. What is cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1587-8.
15. Fauerholdt L, Schlichting P, Christensen E, i in. Conversion of micronodular cirrhosis into macronodular cirrhosis. *Hepatology* 1983;3:928-31.
16. Gabriel A, Miętkiewski J, Stolarczyk J, i in. Podsumowanie wstępne dotyczące wypracowanie standardu oceny histopatologicznej bioptatów w przebiegu przewlekłych zapaleń wątroby – Katowice 15.04.1999. *Pol J Pathol* 1999;50(supl.1):31-2.
17. Mallat A, Preaux AM, Serradeil-Le Gal C, i in. Growth inhibitory properties of endothelin-1 in activated human hepatic stellate cells: a cyclic adenosine monophosphate-mediated pathway: inhibition of both extracellular signal-regulated kinase and c-Jun kinase and upregulation of endothelin B receptors. *J Clin Invest* 1996;98:2771-8.
18. Beljaars L, Molema G, Schuppan D, i in. Successful targeting to rat hepatic stellate cells using albumin modified with cyclic peptides that recognize the collagen type VI receptor. *J Biol Chem* 2000;275:12743-51.
19. Zhu J, Wu J, Frizzell E, i in. Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology* 1999;117:1198-1204.
20. Wright MC, Issa R, Smart DE, i in. Gliotoxin stimulates the apoptosis of human and rat hepatic stellate cells and enhances the resolution of liver fibrosis in rats. *Gastroenterology* 2001;121:685-98.
21. Rombouts K, Niki T, Wielant A, i in. Trichostatin A, lead compound for development of antifibrogenic drugs. *Acta Gastroenterol Bel* 2001;64:239-46.

22. Di Sario A, Bendia E, Taffetani S, i in. Selective Na⁺/K⁺ exchange inhibition by cariporide reduces liver fibrosis in the rat. *Hepatology* 2003;37:256-66.
23. Ueno T, Nakamura T, Ueno H, i in. Present status and future of gene therapy for hepatic fibrosis. In: Okita K, ed, *Liver cirrhosis*. Tokyo: Springer-Verlag, 2001:36-43.
24. Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, i in. Transplantation of bone marrow cells reduces CCl₄-induced liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2004;40:1304-11.
25. Schuppan D, Stolz U, Oesterling C, i in. Serum assays for liver fibrosis. *J Hepatol* 1995;22 (suppl.2):82-8.
26. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, i in. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: A cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13.
27. Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka Y, i in. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease. *World J Gastroenterol* 2005;11:476-81.
28. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, i in. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus – longitudinal validation in a randomised trial. *J Viral Hep* 2002;9:128-33.
29. Wai CT, Greenon JK, Fontana RJ, i in. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518-26.
30. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, i in. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:986-92.

Adres autora:

Dariusz Marek Lebensztejn
III Klinika Chorób Dzieci AM w Białymstoku
ul. Waszyngtona 17, 15-274 Białystok
tel. (85) 745 05 39, fax. (85) 742 38 41
e-mail: DariuszMar.8810735@pharmanet.com.pl