



DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-4-10

Молекулярно-генетические маркеры первичного стеатоза печени при формировании неалкогольной жировой болезни печени

Кривошеев А. Б.¹, Максимов В. Н.^{1,2}, Гуражева А. А.², Левыкина Е. Е.⁵, Бойко К. Ю.⁵, Михайлова Е. С.^{1,3}, Вараксин Н. А.⁴, Кондратова М. А.¹, Аутеншлюс А. И.^{1,3}, Куприянова Л. Я.⁵

¹ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

² НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, 630089, ул. Бориса Богаткова, 175/1

³ ФИЦ ФИМ, Новосибирск, 630117, ул. Тимакова 2

⁴ АО «Вектор-Бест» Новосибирск, 630559. районный поселок Кольцово. Научно-производственная зона, корп. 36, ком. 211

⁵ ГБУЗ НСО ГКБ № 1, г. Новосибирск, 630047 Новосибирск, ул. Залесского 6

Molecular genetic markers of primary liver steatosis in the formation of non-alcoholic fatty liver disease

A. B. Krivosheev¹, V. N. Maksimov^{1,2}, A. A. Gurazheva², E. E. Levykina⁵, K. Yu. Boiko⁵, E. S. Mikhailova^{1,3}, N. A. Varaksin⁴, M. A. Kondratova¹, A. I. Autenshlyus^{1,3}, L. Ya. Kupriyanova⁵

¹ Public budgetary educational institution of higher education "Novosibirsk State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russia, 630091, Novosibirsk, Krasnyj prospect, 52

² NIITPM-branch of ICI SB RAS, Novosibirsk, 630089, st. Boris Bogatkov, 175/1, Russia

³ FITZ FTM, Novosibirsk, 630117, st. Timakova 2, Russia

⁴ AO "Vector-best", Novosibirsk, 630559. District settlement Koltsovo, Research and production zone, bldg. 36, room. 21, Russia

⁵ SBOH NR MCH N1, 630047 Novosibirsk, st. Zalesky 6, Russia

Для цитирования: Кривошеев А. Б., Максимов В. Н., Гуражева А. А., Левыкина Е. Е., Бойко К. Ю., Михайлова Е. С., Вараксин Н. А., Кондратова М. А., Аутеншлюс А. И., Куприянова Л. Я. Молекулярно-генетические маркеры первичного стеатоза печени при формировании неалкогольной жировой болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;182(10): 4–10. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-4-10

For citation: Krivosheev A. B., Maksimov V. N., Gurazheva A. A., Levykina E. E., Boiko K. Yu., Mikhailova E. S., Varaksin N. A., Kondratova M. A., Autenshlyus A. I., Kupriyanova L. Ya. Molecular genetic markers of primary liver steatosis in the formation of non-alcoholic fatty liver disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;182(10): 4–10. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-4-10

✉ **Corresponding author:**

Кривошеев Александр Борисович
Alexander B. Krivosheev
krivosheev-ab@narod.ru

Кривошеев Александр Борисович, д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии им. проф. Г.Д. Залесского

Максимов Владимир Николаевич, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний; профессор кафедры биологии и медицинской генетики

Гуражева Анна Александровна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний,

Левыкина Елена Евгеньевна, врач-ординатор отделения гастроэнтерологии

Бойко Константин Юрьевич, врач-ординатор отделения эндокринологии

Михайлова Елена Семеновна, научный сотрудник ЦНИЛ

Вараксин Николай Анатольевич, Заведующий лабораторией цитокинов

Кондратова Мария Александровна, к.м.н., ассистент кафедры факультетской терапии им. проф. Г.Д. Залесского

Аутеншлюс Александр Исаевич, доктор биологических наук, Заведующий ЦНИЛ; главный научный сотрудник ФИЦ ФИМ

Куприянова Людмила Яковлевна, врач-лаборант лабораторного отделения

Alexander B. Krivosheev, doctor of medical Sciences, Professor of the Department of faculty therapy named after Prof. G.D. Zalesky
 Vladimir N. Maksimov, doctor of medical Sciences, Professor, head of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases; Professor, Department of biology and medical genetics
 Anna A. Gurazheva, Junior researcher at the laboratory of molecular genetic research of therapeutic diseases,
 Elena E. Levykina, resident doctor of the Department of gastroenterology
 Konstantin Yu. Boiko, resident doctor of the Department of endocrinology
 Elena S. Mikhailova, research associate
 Nikolay A. Varaksin, Head of the cytokine laboratory
 Maria A. Kondratova, candidate of medical Sciences, assistant of the Department of faculty therapy named after Prof. G.D. Zalesky
 Alexander I. Autenshlyus, Doctor of Biological Sciences, Head of the Central Scientific Research Laboratory; Chief Researcher
 Lyudmila Ya. Kupriyanova, laboratory assistant of the laboratory Department

Резюме

Цель исследования. Изучение частоты выявления мутаций в гене α_1 -антитрипсина SERPINA1 при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) в сравнении с лицами из общей популяции и оценка особенностей обменных нарушений.

Материалы и методы. Обследовано 439 человек, из них 114 больных НАЖБП и 325 лиц общей популяции. Всем обследованным проведено молекулярно-генетическое тестирование. Оценивали частоту мутаций аллелей Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1. Всем больным НАЖБП проведено комплексное обследование, в ходе которого определяли стандартные показатели функции печени, липидного, порфиринового обмена и цитокинного спектра.

Результаты. Мутации гена α_1 - антитрипсина SERPINA1 достоверно чаще обнаруживаются у пациентов с НАЖБП в сравнении с лицами общей популяции. Нарушения показателей липидного, порфиринового обмена и цитокинного спектра при наличии мутаций гена α_1 - антитрипсина SERPINA1 или их отсутствия регистрировались с одинаковой частотой. На фоне мутаций гена α_1 - антитрипсина SERPINA1 отклонения от нормальных значений показателей липидного, порфиринового обмена и цитокинного спектра оказались более значимы. Нарушения порфиринового обмена и цитокинного спектра обнаружены у большинства больных (в 69,4% и 77,1% случаев, соответственно).

Заключение. Проведение молекулярно-генетических исследований при НАЖБП позволяет уточнить степень обменных нарушений и оценить прогноз заболевания.

Ключевые слова: первичный стеатоз печени, неалкогольная жировая болезнь печени, молекулярно-генетическое исследование

Summary

Purpose of research. Study of the frequency of detection of mutations in the α_1 — antitrypsin SERPINA1 gene in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in comparison with individuals from the General population and assessment of features of metabolic disorders.

Materials and methods. 439 people were examined, including 114 patients with NAFLD and 325 individuals in the General population. All subjects were subjected to molecular genetic testing. The frequency of mutations of the Glu342Lys (PIZ) and Glu264Val (PIS) alleles of the *serpina1* α_1 -antitrypsin gene was evaluated. All patients with NAFLD underwent a comprehensive examination, during which standard indicators of liver function, lipid, porphyrin metabolism and cytokine spectrum were determined.

Results. Mutations of the α_1 — antitrypsin SERPINA1 gene are significantly more common in patients with NAFLD compared to individuals in the General population. Violations of lipid, porphyrin metabolism and cytokine spectrum parameters in the presence of mutations of the α_1 -antitrypsin SERPINA1 gene or their absence were registered with the same frequency. Against the background of mutations of the α_1 — antitrypsin SERPINA1 gene, deviations from the normal values of lipid, porphyrin metabolism and cytokine spectrum were more significant. Violations of porphyrin metabolism and cytokine spectrum were found in the majority of patients (in 69.4% and 77.1% of cases, respectively).

Conclusion. Conducting molecular genetic studies in NAFLD allows you to clarify the degree of metabolic disorders and assess the prognosis of the disease.

Keyword: first liver steatosis, non-alcoholic fatty liver disease, molecular genetic research

Молекулярно-генетические исследования в гастроэнтерологии в настоящее время стали приобретать важное значение, поскольку расшифровка генома человека привела к накоплению информации о генетических вариантах, связанных с риском развития и особенностями течения различных заболеваний печени [1]. В этом отношении неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) не является исключением. Известны исследования, в которых доказаны наследственные механизмы формирования НАЖБП и подтверждена ассоциация с дисметаболизмом липидов, высокой активностью показателей цитокинового спектра, ожирением, сахарным диабетом (СД), криптогенным циррозом печени [2,3]. В этом аспекте широко изучается полиморфизм генов *CYP7A1*, *ENPP1/PC-1*, *IRS-1*, которые могут иметь значение в развитии нарушений липидного и углеводного обмена при формировании НАЖБП [4,5,6]. В настоящее время достоверно доказана взаимосвязь развития НАЖБП с аллельными вариантами гена *PNPLA3*, кодирующего белок, который участвует в метаболизме триглицеридов. Было показано, что носительство аллеля G полиморфизма rs738409 гена *PNPLA3* увеличивает риск стеатоза печени независимо от метаболических факторов риска [7, 8, 9].

Вместе с тем достаточно значима роль генов с неустановленной функцией в формировании НАЖБП. В частности, отклонения в показателях обмена железа нередко регистрируются при НАЖБП и могут ассоциироваться с мутациями C282Y и H63D в гене гемохроматоза гена *HFE* [10,11,12]. В этом отношении также определенный интерес представляет дефицит α_1 -антитрипсина.

Материалы и методы

Обследовано 114 больных (83 мужчины и 31 женщина) в возрасте от 23 до 69 лет (средний возраст $49,4 \pm 1,1$ года) с верифицированной НАЖБП. Диагноз НАЖБП был подтвержден в ходе комплексного обследования согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению НАЖБП Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации [19]. Дополнительно для неинвазивной диагностики и подтверждения стеатоза печени у пациентов основной группы с НАЖБП рассчитывали индекс *HIS* (*Hepatic steatosis index*), основанный на модели соотношения клинических и лабораторных показателей пациента. Индекс *HIS* рассчитывали по формуле: $HIS = 8 \times (AlAT/AsAT) + IMT + 2$ (если женщины) + 2 (если имеется СД). Пороговое значение индекса *HIS* более 36,0 свидетельствует в пользу стеатоза печени у пациентов с чувствительностью 93,1% и специфичностью 92,4% [20,21]. Коэффициент *HIS* превышал контрольные значения в основной группе, составляя $45,6 \pm 1,6$, что подтверждало у них наличие стеатоза печени. Учитывая сходство НАЖБП с алкогольной болезнью печени, у всех пациентов основной группы с НАЖБП было исключено хроническое алкогольное поражение печени, а также гепатотропная вирусная инфекция. С этой целью определяли

Это генетически детерминированное заболевание, вызванное недостаточностью дефицита α_1 -антитрипсина в сыворотке крови и проявляющееся поражением легких (хроническая обструктивная болезнь легких, эмфизема легких), поражением печени и сосудов. Причиной заболевания является мутация гена α_1 -антитрипсина *SERPINA1*, расположенного на 14 хромосоме в позиции 14q31–32.3 [13,14]. В настоящее время идентифицировано более 100 вариантов нуклеотидной последовательности α_1 -антитрипсина, различают M-аллели, ассоциирующиеся с нормальным уровнем α_1 -антитрипсина в сыворотке крови и его нормальной функцией (PIM), а также дефицитные Z- и S-аллели, которые ассоциируются со сниженным уровнем α_1 -антитрипсина. Выделяют гетерозиготы PIMS – снижение α_1 -антитрипсина до 80% от нормы, гомозиготы PISS – снижение α_1 -антитрипсина до 60% от нормы, гетерозиготы PISZ – снижение α_1 -антитрипсина до 40% нормы и гомозиготы PIZZ – снижение α_1 -антитрипсина до 15% от нормы, когда имеется риск поражения «органов мишеней» [15,16]. Не исключено, что токсическое повреждение печени возникает вследствие употребления этанола, а также в результате инфицирования гепатотропными вирусами, особенно вирусом гепатита С генотип 3а и на фоне дефицита α_1 -антитрипсина возможно формирование жирового гепатоза [17, 18].

Целью настоящей работы явилось изучение частоты выявления мутаций в гене α_1 -антитрипсина *SERPINA1* при НАЖБП в сравнении с лицами из общей популяции и оценка особенностей обменных нарушений.

маркеры вирусных гепатитов В и С, а также проводили анкетирование больных. Пациенты самостоятельно заполняли анкеты «AUDIT» и «Опросник CAGE», анализ которых свидетельствовал об отсутствии хронической алкогольной зависимости.

Группу сравнения (популяционная) составили 325 человек (153 женщины и 172 мужчины) в возрасте от 25 до 67 лет (средний возраст $47,9 \pm 0,6$ года). Группа сформирована на основе случайной выборке жителей г. Новосибирска, постоянно проживающих в Новосибирске (подобрана по возрасту в соотношении 1:3: 1 случай на 3 контроля), которые были обследованы в рамках программы «MONICA» и «НАРИЕЕ». Все обследованные основной и популяционной групп были прогенотипированы в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТГПМ – филиал ИЦиГ СО РАН на наличие и/или отсутствие мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина *SERPINA1*, частоты которых определяли в ходе молекулярно-генетического анализа ДНК при помощи полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. У всех пациентов основной группы изучали анамнестические сведения, включая данные семейного анамнеза. Исключали патологию органов дыхания. Всем пациентам

основной группы проводили комплексное клиническо-инструментальное обследование. Оценивали стандартные показатели функции печени (АлАТ, АсАТ, общий и прямой билирубин, гаммаглутамилтранспептидазу) и липидного обмена (общий холестерин, триглицериды, холестерин липопротеидов высокой и низкой плотности). Проводили специальные методы исследования. В частности, определяли показатели цитокинового спектра: интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-8 (ИЛ-8), интерлейкин-10 (ИЛ-10), интерлейкин-1Ra (ИЛ-1Ra), фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) с помощью стандартных иммуноферментных наборов реагентов («Вектор», Россия, Новосибирск). Исследования проводили в лаборатории цитокинов АО «Вектор-Бест». Методом хроматографии-спектрофотометрии с помощью тест-набора Biosystems (Испания) определяли предшественники порфиринов: δ -аминолевулиновую кислоту (δ -АЛК), порфобилиноген (ПБГ); фракции порфиринов: уропорфирин (УП) и копропорфирин (КП). Исследование проводилось на базе лабораторного отделения ГБУЗ НСО ГКБ № 1 г. Новосибирск.

Для исключения возможной патологии органов дыхания целенаправленно у пациентов с выявленными мутациями в гене α_1 -антитрипсина SERPINA1 оценивали состояние функции внешнего дыхания. Пациентам проводили спирографию с бронхолитической пробой (по показаниям) на спирографе «Эльф-Ласпек-01» (Россия). Оценивали следующие показатели внешней функции дыхания легких: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха в первую секунду (ОФВ₁), жизненную емкость легких (ЖЕЛ), пробу Тиффно (соотношение ФЖЕЛ/ОФВ₁).

В исследование не включали пациентов с лекарственными поражениями печени, алкогольной болезнью печени, циррозом печени любой этиологии, гепатотропной вирусной инфекцией, наркотической зависимостью, хронической обструктивной болезнью легких, острым инфарктом миокарда, острым коронарным синдромом, тяжелой сердечной недостаточностью (ФК_{III-IV} или НК_{III}), злокачественными заболеваниями, тяжелыми сосудистыми поражениями, заболеваниями крови, хронической болезнью почек тяжелой формы.

Результаты клинических и лабораторных исследований обрабатывали методом вариационной статистики. Сравнения уровня непрерывных показателей проводили после проверки нормальности их распределения по тесту Колмогорова–Смирнова. Если показатель отвечал критериям нормального распределения, то использовали однофакторный дисперсионный анализ. Если показатель не соответствовал критериям нормального распределения, то применяли тест Манна-Уитни для двух независимых выборок. Различия между средними величинами считали достоверными при $p < 0,05$. Различия частотных характеристик качественных переменных оценивали с помощью критерия соответствия (метод χ^2) или коэффициент Пирсона. При установлении достоверности связей пользовались таблицей χ^2 , считая результаты достоверными, если $p < 0,05$ при соответствующих степенях свободы (n). Ассоциация двух качественных показателей оценивалась при помощи четырехпольных таблиц сопряженности с подсчетом отношения шансов (OR) и доверительных интервалов (95% CI). Доверительные интервалы (CI), приводимые в работе, строились для доверительной вероятности $p = 95\%$.

Результаты исследования и их обсуждение

Всем пациентам проводилось комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование, в ходе которого обязательно исключалось обострение хронической инфекции (хронический бронхит, хронический тонзиллит, хронический пиелонефрит и др.). Унифицированные маркеры воспаления: количество лейкоцитов в общем анализе крови – $6,3 \pm 0,6 \times 10^9/\text{л}$ (норма $4,0 \times 10^9/\text{л} - 8,8 \times 10^9/\text{л}$); скорость оседания эритроцитов – $10,8 \pm 2,3$ мм/час (норма: мужчины 1–10 мм/ч, женщины 2–15 мм/ч); С-реактивный белок $4,1 \pm 0,9$ г/л (норма до 5,0 г/л). Маркеры воспаления соответствовали контрольным значениям, что свидетельствовало об отсутствии на момент обследования острой инфекции или обострения хронической инфекции.

У всех пациентов имела место коморбидная патология. У 41 больного наблюдалась ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертония – у 64 пациентов, сахарный диабет типа 2 – 48 человек, патология органов пищеварения – у 32 больных. Особое внимание обращали на состояние органов дыхания. У 9 пациентов в анамнезе была бронхиальная астма, смешанная, на момент обследования контролируемая. Оценка функции внешнего дыхания легких у обследованных пациентов отклонений от нормы не выявило: ЖЕЛ $2,51 \pm 2,3$ л; ФЖЕЛ $2,28 \pm 1,3$ л;

ОФВ₁ $-2,12 \pm 1,7$ л; проба Тиффно 93,1. У большинства больных имели место ИМТ $33,6 \pm 0,6$ кг/м² (98 человек, 85,9%) и абдоминальное ожирение (окружность талии $113,9 \pm 1,5$ см, 96 человек, 84,2%).

В целом по группе обследованных пациентов с НАЖБП мутантные аллели 342Lys (PIZ) и 264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 зарегистрированы у 22 пациентов (19,3%), при этом несколько чаще регистрировалась мутация по аллелю 264Val (PIS) (табл. 1).

Иная картина наблюдалась при оценке частот мутантных аллелей 342Lys (PIZ) и 264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 в группе сравнения (популяционной). Мутации были обнаружены только у 14 пациентов (4,3%) (табл. 1). Сравнительный анализ этих данных позволяет отметить существенное повышение частоты носительства мутантных аллелей 342Lys (PIZ) и 264Val (PIS) в группе больных НАЖБП. Отношение шансов позволило обнаружить носителя генотипа Glu342Lys (PIZ) в группе НАЖБП выше в 3,9 раза (NZ + ZZ vs NN: ОШ = 3,90, 95% ДИ 1,5–10,5, $p=0,007$), а также носителя генотипа Glu264Val (PIS) выше в 6,6 раза (NS vs NN: ОШ = 6,6, 95% ДИ 2,4–18,3, $p<0,001$) по сравнению с популяционной группой.

Состояние порфиринового обмена изучено у 111 больных. Дисметаболизм порфиринов выявлен у 77

Таблица 1.

Частота носительства аллелей Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 у больных неалкогольной жировой болезнью печени и у лиц общей популяции

Группы обследованных	В целом по группе		Аллель Glu342Lys (PIZ)		Аллель Glu264Val (PIS)	
	n	Абс.	n	Абс.	n	Абс.
Основная группа (n=114)	22	19,3	9	7,9	13	11,4
Группа сравнения (популяционная) (n=325)	14	4,3	8	2,5	6	1,8

Таблица 2.

Частота нарушений показателей порфиринового обмена и полиморфизм гена α_1 -антитрипсина SERPINA1

Варианты порфиринового обмена	В целом по группе (n=77)		Пациенты с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) (n=17)		Пациенты без мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) (n=60)	
	n	Абс.	n	Абс.	n	Абс.
Изолированное и сочетанное повышение предшественники порфиринов (δ -АЛК и ПБГ), нм/сут	29	37,7	4	5,2	25	32,5
Уропорфирин, нм/сут	7	9,1	3	3,9	4	5,2
Копропорфирин, нм/сут	6	7,8	2	2,6	4	5,2
Сочетанные фракционные нарушения (УП + КП)	5	6,5	1	1,3	4	5,2
Комбинированные нарушения (δ -АЛК, ПБГ, УП, КП)	30	38,9	7	9,1	23	29,8
Всего:	77	100,0	17	22,1	60	77,9

Примечание.

Условные обозначения: δ -АЛК – δ -аминолевулиновая кислота, ПБГ – порфобилиноген, УП – уропорфирин, КП – копропорфирин.

Таблица 3.

Частота нарушений показателей цитокинового спектра и полиморфизм гена α_1 -антитрипсина SERPINA1

Показатели цитокинового спектра	В целом по группе (n=64)		Пациенты с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) (n=15)		Пациенты без мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) (n=49)	
	n	Абс.	n	Абс.	n	Абс.
Интерлейкин –6, пг/мл	47	73,4	12	18,7	35	54,7
Интерлейкин –8, пг/мл	5	7,8	3	4,7	2	3,1
Интерлейкин –10, пг/мл	11	17,2	3	15,6	8	12,5
Интерлейкин –1Ra, пг/мл	42	65,6	10	6,2	32	50,0
Фактор некроза опухоли- α , пг/мл	7	10,9	4		3	4,7

Таблица 4.

Состояние метаболических показателей и полиморфизм гена дефицита α_1 -антитрипсина SERPINA1 при неалкогольной жировой болезни печени (M \pm m)

Примечание

*) Различия статистически достоверны $p < 0,05-0,001$. Условные обозначения: ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности.

Показатели	Пациенты с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS)		Пациенты без мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS)	
	n	M \pm m	n	M \pm m
Показатели функции печени:				
АлАТ, мкмоль/л	22	0,48 \pm 0,06	92	0,42 \pm 0,03
АсАТ, мкмоль/л	22	0,37 \pm 0,05	92	0,32 \pm 0,02
Билирубин общий, ммоль/л	22	13,1 \pm 2,8	92	12,2 \pm 0,8
Билирубин прямой, ммоль/л	22	2,1 \pm 1,1	92	1,6 \pm 0,3
Гаммаглутамилтранспептидаза, г/л	22	83,9 \pm 6,4	92	83,4 \pm 4,3
Показатели липидного обмена:				
Общий холестерин, ммоль/л	22	5,4 \pm 0,3	92	5,9 \pm 0,1
Триглицериды, ммоль/л	22	3,2 \pm 0,5	92	2,5 \pm 0,2
ХС-ЛПВП, ммоль/л	22	0,83 \pm 0,06	92	1,15 \pm 0,07
ХС-ЛПНП, ммоль/л	22	3,61 \pm 0,17	92	2,09 \pm 0,28
Показатели порфиринового обмена с повышенным уровнем				
δ -аминолевулиновая кислота, нм/сут	12	579,9 \pm 30,4	42	585,9 \pm 36,4
Порфобилиноген, нм/сут	5	62,6 \pm 2,6	18	58,5 \pm 2,4
Уропорфирин, нм/сут	9	101,1 \pm 6,1*	19	78,4 \pm 6,0
Копропорфирин, нм/сут	7	267,1 \pm 9,8*	20	198,9 \pm 7,2
Показатели цитокинового спектра с повышенным уровнем				
Интерлейкин –6, пг/мл	12	25,9 \pm 4,9*	35	14,3 \pm 1,6
Интерлейкин –8, пг/мл	3	185,5 \pm 53,6*	13	13,2 \pm 1,4
Интерлейкин –10, пг/мл	3	20,5 \pm 2,6*	8	14,1 \pm 1,3
Интерлейкин –1Ra, пг/мл	10	2889,5 \pm 488,6*	32	1851,8 \pm 116,4
Фактор некроза опухоли- α , пг/мл	4	13,6 \pm 1,3*	3	8,8 \pm 0,6

пациентов (69,4%). Выделяли следующие отклонения от нормы: 1. Повышение предшественников порфиринов (δ -АЛК и ПБГ). Обнаружены у 59 боль-

ных (76,6%). Высокий уровень δ -АЛК и ПБГ регистрировался изолированно, в сочетании или в комбинации с другими расстройствами порфиринового

обмена. 2. Фракционные нарушения (УП и КП) наблюдались у 48 больных (62,3%). Повышение фракций порфиринов также встречалось изолированно, в сочетании или в комбинации с предшественниками порфиринов. У пациентов без мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) большинство вариантов нарушений порфиринового обмена регистрировались несколько чаще (табл. 2). При оценке значимости полученных данных по χ^2 -критерию Пирсона было установлено отсутствие достоверных различий по частоте нарушений порфиринового обмена при наличии мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 и их отсутствии ($\chi^2 = 2,51$) при $n = 2$, $p > 0,5$.

Оценка показателей цитокинового спектра проведена у 83 пациентов. Частота отклонений от нормы зарегистрирована у 64 больных (77,1%). Повышение содержания по одному параметру обнаружено у 33 (51,6%), по двум параметрам – у 20 (31,2%), по трем и более – у 11 человек (17,2%). Значительно чаще регистрировались отклонения от контрольных значений по ИЛ-1Ra (42 человека, 65,6%) и ИЛ-6 (47 человек, 73,4%). Реже отмечалось повышение уровня ИЛ 8 (5 человек, 7,8%), ИЛ-10 (11 человек, 17,2%) и ФНО- α (7 человек, 10,9%). С учетом мутаций в гене α_1 -антитрипсина SERPINA1 отклонения от нормальных значений показателей цитокинового спектра чаще наблюдались у пациентов без мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) (табл. 3). Также было установлено отсутствие достоверных различий по частоте отклонений показателей цитокинового спектра у пациентов с наличием или отсутствием мутаций Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1. При оценке значимости полученных данных по χ^2 -критерию Пирсона ($\chi^2 = 7,31$) при $n = 4$, $p > 0,5$.

Анализ результатов биохимических исследований в наблюдаемой группе больных НАЖБП позволяет констатировать, что все наиболее значимые и достоверные метаболические нарушения выявлены преимущественно у пациентов с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 (табл. 4).

Показатели цитолиза (АсАТ, АлАТ), общий и прямой билирубин у всех обследованных соответствовали контрольным значениям. Отмечена только активность гаммаглутамилпептидазы до 1,5 норм. Показатели липидного обмена у всех пациентов превышали контрольные значения. Однако у больных с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 уровень триглицеридов и холестерина липопротеидов низкой плотности был заметно выше (табл. 4).

Заключение

Таким образом, полученные нами данные позволили установить: 1) Полиморфизм аллелей Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 достоверно чаще обнаруживается у пациентов с НАЖБП в сравнении с лицами общей популяции. 2) Обменные нарушения выявлены у всех больных НАЖБП. При этом отклонения от

Все изучаемые параметры порфиринового обмена превышали нормативные значения. Повышение уровня предшественников порфиринов (δ -АЛК и ПБГ) у всех больных было идентичным. Напротив, высокий уровень фракций порфиринов (УП и КП) оказался достоверно выше только у пациентов с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 (табл. 4).

Показатели цитокинового спектра. Повышение значений ИЛ-6; ИЛ-8; ИЛ-10; ИЛ-1Ra; ФНО- α у пациентов с мутациями Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 было статистически достоверно, по сравнению с пациентами без мутаций (табл. 4).

Проведенные нами исследования у больных НАЖБП позволяют обсудить ряд вопросов. Во-первых, у пациентов НАЖБП проведенное молекулярно-генетическое исследование гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 показало, что мутация Glu342Lys (PIZ) регистрировалась в 3,9 раза чаще, а мутация Glu264Val (PIS) в 6,6 раз чаще в сравнении с популяционной группой. Заболевание печени при дефиците α_1 -антитрипсина возникает только при мутациях, которые ведут к накоплению α_1 -антитрипсина в печеночных клетках. Классический тип такой мутации – генотип Lys342Lys (ZZ), при котором полимеризованные молекулы α_1 -антитрипсина задерживаются в эндоплазматическом ретикулуме печеночных клеток и оказывают гепатотоксический эффект [22]. У ряда лиц с генотипом PiZ выраженных клинических проявлений болезни печени может не наблюдаться, но при этом имеет место повышенный риск формирования стеатоза печени [17, 18, 23].

Во-вторых, полученные результаты биохимических исследований показали, что большинство показателей функции печени у обследованных пациентов соответствовало контрольным значениям. Наблюдаемое повышение гаммаглутамилтранспептидазы до 1,5 норм при НАЖБП является допустимым. Отклонение от нормальных значений показателей липидного обмена у пациентов НАЖБП зарегистрировано по всем изучаемым показателям. Более значимые отклонения от нормы у больных с полиморфизмом по аллелям Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 могло быть обусловлено тем, что у большинства больных имела место патология сердечно-сосудистой системы (16 человек, 72,7%). В-третьих, дисметаболизм показателей порфиринового обмена, а также цитокинового спектра обнаружили достоверно значимые отклонения от нормы. Не исключено, что данные нарушения могут оказывать заметное влияние на формирование первичного стеатоза печени на фоне полиморфизма гена α_1 -антитрипсина SERPINA1.

контрольных значений показателей липидного, порфиринового обмена и цитокинового спектра при наличии полиморфизма Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1 и/или их отсутствия регистрировались с одинаковой частотой. 3) На фоне полиморфизма аллелей Glu342Lys (PIZ) и Glu264Val (PIS) гена α_1 -антитрипсина SERPINA1

отклонения от нормальных значений показателей липидного, порфиринового обмена и цитокинового спектра оказались более значимы. 4) Нарушения порфиринового обмена и цитокинового спектра

обнаружены у большинства больных (в 69,4% и 77,1% случаев, соответственно). Причина их возникновения остается неясной, что требует дополнительных исследований.

Литература | References

1. Порошенко Г.Г. Генетика заболеваний органов пищеварения. Российский гастроэнтерологический журнал. 2000; 1: 5–17.
Poroshenko G. G. Genetics of diseases of the digestive system. Russian gastroenterological journal. 2000; 1: 5–17.
2. Struben V.M.D., Hespeneide E. E., Caldwell S. H. Nonalcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis within kindreds. *Am. J. Med.* 2000; 108 (1): 9–13.
3. Willner I.R., Waters B., Patel S. R. et al. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: ibsulin resistance, familial tendency and severity of disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2001; 96 (10): 2957–2961.
4. Жалдак Д.А., Мелеховец О. К., Орловский В. Ф. Полиморфизм гена CYP7A1 и особенности дислипидемий у больных неалкогольной жировой болезни печени в сочетании с гипотиреозом. *Терапевтический архив.* 2017; 89 (10): 62–65.
Zhaldak DA, Melekhovets OK, Orlovskiy VF. CYP7A1 gene polymorphism and the characteristics of dyslipidemias in patients with nonalcoholic fatty liver disease concurrent with hypothyroidism. Therapeutic archive = Terapevticheskiy arkhiv (archive until 2018). 2017;89(10):62–65. https://doi.org/10.17116/terarkh2017891062–65
5. Dongiovanni P., Valenti L., Rametta R. et al. Genetic variants regulating insulin receptor signaling are associated with the severity of liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.* 2010; 59 (2): 267–273.
6. Oliveira C.P., Stefano J. T., Cavaleiro A. M., Fortes M. A., Vieira S. M., Lima V. M. R. Association of polymorphisms of glutamate-cystein ligase and microsomal triglyceride transfer protein genes in non-alcoholic fatty liver disease. *J. gastroenterology and Hepatology.* 2010; 25 (2): 357–361.
7. Богомолов П.О., Коккина К. Ю., Майоров А. Ю., Мишина Е.Е. Генетические аспекты неалкогольной жировой болезни печени. Обзор литературы. *Вопросы современной педиатрии.* 2018; 17 (6): 442–448.
Bogomolov P. O., Kokkina K. Yu., Mayorov A. Yu., Mishina E. E. Genetic Aspects of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Current Pediatrics. 2018;17(6):442–448. (In Russ.) https://doi.org/10.15690/vsp.v17i6.1974
8. Rotman Y., Koh C., Zmuda J.M. et al. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010; 52 (3): 894–903.
9. Krawczyk M., Grunhage F., Zimmer V., Lammert F. Variant adiponutrin (PNPLA3) represents a common fibrosis risk gene: noninvasive elastography-based study in chronic liver disease. *J. Hepatol.* 2011; 7: e1001324.
10. Кондратова М.А., Куимов А. Д., Максимов В. Н., Алешина А. В., Воевода М. И., Кривошеев А. Б. Мутации в гене HFE у больных неалкогольной жировой болезни печени, особенности обменных нарушений. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2017; 145 (9): 18–24.
Kondratova M. A., Kuimov A. D., Maksimov V. N., et al. The frequency of hfe gene polymorphism in patients with nonalcoholic liver disease and in persons of the general population. Features of metabolic disorders. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2017;(9):18–24. (In Russ.)
11. Nelson J., Bhattacharya R., Lindor K. et al. HFE C282Y mutations are associated with advanced hepatic fibrosis in Caucasians with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2007; 46 (3): 723–729.
12. Bugianesi E., Manzini P., D'Anteco S. et al. relative contribution of iron burden, HFE mutations and insulin resistance to fibrosis in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology.* 2004; 39 (1): 179–187.
13. Розина Т. П. Дефицит α₁-антитрипсина. *Гепатологический форум.* 2011; 2: 17–21.
Rozina T. P. A1-antitrypsin deficiency. Hepatological Forum. 2011; 2: 17–21.
14. Дефицит альфа-1-антитрипсина у взрослых. Российское респираторное общество. М.: 2017.
Alpha-1-antitrypsin deficiency in adults. Russian Respiratory Society. Moscow: 2017.
15. DeMeo D.L., Silverman E. K. Alpha1-antitrypsin deficiency. 2: genetic aspects of alpha (1)-antitrypsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk. *Thorax.* 2004; 59 (3): 259–264.
16. Fairbanks K. D., Tavill A. S. Liver disease in alpha 1-antitrypsin deficiency: a review. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103 (8): 2136–2141.
17. Пузырев В. П., Савюк В. Я. Молекулярные основы и клинические аспекты недостаточности α-1-антитрипсина. *Пульмонология.* 2003; 105–117.
Puzyrev V. P., Savyuk V. Ya. Molecular basis and clinical aspects of α-1-antitrypsin deficiency. Pulmonology. 2003; 105–117.
18. de Serres F.J., Blanco T., Fernandez-Bustillo E. Genetic epidemiology of alpha-1-antitrypsin deficiency in North America and Australia/ New Zeland, Australia, Canada, and the United States of America. *Clinical Genetics.* 2003; 64 (5): 382–397.
19. Ивашкин В.Т., Маевская М. В., Павлов Ч. С. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2016; 27 (2): 24–42.
Ivashkin V. T., Mayevskaya M. V., Pavlov C. S., et al. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the Russian gastroenterological association. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2016;26(2):24–42. (In Russ.) https://doi.org/10.22416/1382–4376–2016–26–2–24–42
20. Rhee E. J., Lee W. Y., Cho Y. K. Hyperinsulinemia and the development of nonalcoholic fatty liver disease in nondiabetic adults. *Am. J. Med.* 2011; 124 (1): 69–76.
21. Lee J. H., Kim D., Kim H. J., et al. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Dig. Liver Dis.* 2010; 42 (7): 503–508.
22. Ranes J., Stoller J. K. A review of alpha 1-antitrypsin deficiency. *Sem.Resp. Critical Care Med.* 2005; 26 (2): 154–166.
23. Журкова Н.В., Кондакова О. Б., Строчкова Т. В. и др. Недостаточность α1-антитрипсина у детей с патологией печени. *Педиатрия.* 2008; 87 (3): 138–141.
Jurkova N. V., Kondakova O. B., Strokovaya T. V., et al. Недостаточность α 1-антитрипсина у детей с патологией печени. PEDIATRIA. 2008; 87 (3).