



Экспрессия адипокина (secreted frizzled related protein-4) коррелирует с выраженностью жировых отложений в печени*

Тарасова Л. В.^{1,2,3}, Диомидова В. Н.^{1,4}, Толмачёва Н. В.¹, Цыганова Ю. В.¹, Иванова А. Л.^{1,4}, Маслова Ж. В.¹, Барсукова Е. В.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», 428015 г. Россия, г. Чебоксары, Московский проспект, 45.

² БУ ВО ХМАО-Югры «Сургутский государственный университет», 628412, Россия, Ханты-Мансийский автономный Округ-Югра, г. Сургут, пр. Ленина, 1.

³ БУ ЧР «Республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Чувашской Республики, 428018, Россия, Чувашская Республика, г. Чебоксары, Московский проспект, 9.

⁴ БУ ЧР «Городская клиническая больница №1» Министерства здравоохранения Чувашской Республики, 428028, Россия, Чувашская республика, г. Чебоксары, пр. Тракторостроителей, 46.

Для цитирования: Тарасова Л. В., Диомидова В. Н., Толмачёва Н. В., Цыганова Ю. В., Иванова А. Л., Маслова Ж. В., Барсукова Е. В. Экспрессия адипокина (secreted frizzled related protein-4) коррелирует с выраженностью жировых отложений в печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;189(5): 44–48. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-189-5-44-48

✉ Для переписки:

**Тарасова
Лариса Владимировна**
tlarisagast18@mail.ru

Тарасова Лариса Владимировна, д.м.н., заведующая кафедрой факультетской и госпитальной терапии; заведующая гастроэнтерологическим Центром; профессор кафедры внутренних болезней медицинского института

Диомидова Валентина Николаевна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой пропедевтики внутренних болезней с курсом лучевой диагностики; заведующая отделением ультразвуковой диагностики

Толмачёва Наталия Викентьевна, д.м.н., заведующая кафедрой дерматовенерологии с курсом гигиены

Цыганова Юлия Вадимовна, старший преподаватель кафедры факультетской и госпитальной терапии

Иванова Антонина Львовна, ассистент кафедры факультетской и госпитальной терапии; главный врач

Маслова Жанна Валентиновна, кандидат биологических наук, доцент кафедры дерматовенерологии с курсом гигиены

Барсукова Елена Владимировна, доцент кафедры факультетской и госпитальной терапии; главный врач

Резюме

* Иллюстрации к статье – на цветной вклейке в журнал.

В статье освещаются результаты исследования нового метода диагностики неалкогольной жировой болезни печени на живом организме методом определения сывороточного уровня маркера Secreted frizzled related protein-4 (SFRP4) с гистологическим подтверждением результатов. В хроническом эксперименте изучались показатели двух групп экспериментальных животных: контрольной и опытной по 15 крыс в каждой. Контрольная (эталонная) группа животных находилась на обычном кормовом и питьевом режиме, опытная получала продукты питания с повышенным содержанием углеводов и жиров. Результаты биохимических анализов крови и аутопсийных биоматериалов на 180 день эксперимента указали на наличие жировых изменений в печени у опытной группы животных. Подтверждена значимость циркулирующего адипокина SFRP4 в диагностике неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Выявлена гистологически подтверждённая прямая корреляция SFRP4 со степенью фиброза печени при НАЖБП. Объяснено место SFRP4 в патогенезе неалкогольного жирового поражения печени. Отмечено, что в случае успешной экстраполяции результатов исследования на организм человека информация станет успешным решением одной из наиболее актуальных проблем современной гепатологии.

Ключевые слова: канонический путь Wnt, Secreted frizzled related protein-4, неалкогольная жировая болезнь печени, фиброз печени

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-189-5-44-48>

Correlation of secreted frizzled related protein-4 adipokin expression and expression of fatty liver changes under the conditions of a chronic experiment*

L. V. Tarasova^{1,2,3}, V. N. Diomidova^{1,4}, N. V. Tolmacheva¹, Yu. V. Tsyganova¹, A. L. Ivanova^{1,4}, J. V. Maslova¹, E. V. Barsukova^{1,3}¹ FSBEI of HE "The Chuvash State University n.a. I. N. Ulyanov", 15, Moskow avenue, 428015, Cheboksary, Russia.² BI of HE "The Surgut State University", 1 Lenina street, 628412, Khanty-Mansi Autonomous Region — Ugra, Surgut, Russia.³ BU ChR "Republican Clinical Hospital" of the Ministry of Health of the Chuvash Republic, 9 Moskovsky prospect, 428018, Chuvash Republic, Cheboksary, Russia⁴ BU ChR "City Clinical Hospital No. 1" of the Ministry of Health of the Chuvash Republic, 46.Traktorostroiteley Ave., 428028, Chuvash Republic, Cheboksary, Russia

For citation: Tarasova L. V., Diomidova V. N., Tolmacheva N. V., Tsyganova Yu. V., Ivanova A. L., Maslova J. V., Barsukova E. V. Correlation of secreted frizzled related protein-4 adipokin expression and expression of fatty liver changes under the conditions of a chronic experiment. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;189(5): 44–48. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-189-5-44-48

Larisa V. Tarasova, Doctor of Medical Sciences, Head of the Faculty and Hospital Therapy Department; Professor Internal Diseases Department; Head of the gastroenterology department; *Scopus Author ID: 35777248600*, *ORCID: 0000-0003-1496-0689*

✉ *Corresponding author:*

Larisa V. Tarasova
 tlarisagast18@mail.ru

Valentina N. Diomidova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Diseases with the course of radiation diagnostics; Head of the Department of Ultrasound Diagnostics; *Scopus Author ID: 56195523600*, *ORCID: 0000-0002-3627-7971*

Natalya V. Tolmacheva, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Dermatovenereology with a course of hygiene; *ORCID: 0000-0003-1403-8838*

Julia V. Tsyganova, Senior lecturer of the Faculty and Hospital Therapy Department; *ORCID: 0000-0002-8339-9496*

Antonina L. Ivanova, Assistant of the Department of Faculty and Hospital Therapy

Zhanna V. Maslova, candidate of biological sciences, associate professor of the Department of Dermatovenereology with a course of hygiene

Elena V. Barsukova, Associate Professor, Department of Faculty and Hospital Therapy; The head doctor

Summary

The article highlights the results of a study of a new method for diagnosing non-alcoholic fatty liver disease in a living organism by determining the serum level of the marker Secreted frizzled related protein-4 (SFRP4) with histological confirmation of the results. In a chronic experiment, the parameters of two groups of experimental animals were studied: control and experimental, 15 rats each. The control (reference) group of animals was in the usual feed and drinking mode, the experimental received food with a high content of carbohydrates and fats. The results of biochemical blood tests and autopsy biomaterials on day 180 of the experiment indicated the presence of fatty changes in the liver in the experimental group of animals. The importance of circulating adipokine SFRP4 in the diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has been confirmed. A histologically confirmed direct correlation of SFRP4 with the degree of liver fibrosis in NAFLD was revealed. The place of SFRP4 in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver damage is explained. It is noted that in case of successful extrapolation of the results of the study on the human body, information will become a successful solution to one of the most pressing problems of modern hepatology.

* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal.

Keywords: canonical Wnt path, Secreted frizzled related protein-4, non-alcoholic fatty liver disease, liver fibrosis

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Образ жизни современного человека характеризуется низкой физической активностью и высококалорийным питанием, содержащим в своём составе большое количество насыщенных жиров, простых углеводов (сахаров) и недостаточное – необходимых для организма человека пищевых волокон, микронутриентов (витаминов, минеральных веществ), фосфолипидов, полиненасыщенных жирных кислот и других биологически активных компонентов.

В последние десятилетия обозначился рост числа хронических неинфекционных заболеваний, фактором риска которых выступает пища с преобладанием углеводно-жировой компоненты. Прежде всего, значительно увеличилось потребление рафинированных продуктов, в том числе сахара. Известно, что избыточное содержание простых углеводов в рационе питания человека приводит к нарушению функции поджелудочной железы,

снижению образования в клетках гликогена, способствует повышению жиросодержания, развитию морфофункциональных нарушений внутренних органов и систем. Чаще всего, клинически указанные процессы выражаются в ожирении (в первую очередь, висцеральном), нарушении толерантности к глюкозе, метаболическом синдроме, сахарном диабете, их компонентах и осложнениях [1].

Одним из компонентов метаболического синдрома является неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП). Своевременная диагностика и лечение НАЖБП – наиболее актуальная проблема современной гепатологии. Во-первых, вследствие её высокой распространённости [2], во-вторых – отсутствия информативных лабораторных маркёров [3], в-третьих – недостаточной эффективности имеющихся лекарственных препаратов [4].

Биопсия печени является «золотым стандартом» постановки диагноза НАЖБП [5]. Микроскопически при НАЖБП обнаруживают проявления стеатоза (присутствие гликогенизированных ядер и липогранул) [6,7], фиброза (септ), воспалительных изменений (преимущественно лейкоцитарного инфильтрата), баллонной и/или некротической дистрофии и апоптоза гепатоцитов [8].

Морфологические изменения при заболеваниях обусловлены различными патологическими процессами. При НАЖБП выделяют ряд ключевых моментов («толчков») в развитии нозологии: накопление триглицеридов внутри гепатоцита, липо-

токсичность, хроническая системная воспалительная реакция [9]. Все указанные процессы приводят к активации регенераторных систем организма (в частности, печени как органа). Длительное повреждение приводит к гиперрегенерации и развитию фиброза печени [10].

О триггерном механизме фиброза как процессе имеется ограниченная информация. Известно о существовании β -катенин-зависимого Wnt-сигнального пути, регулирующего стимулированный апоптоз клетки и фиброз органов и тканей организма [11]. Роль трансмембранных белков Wnt-пути выполняют белки семейства Frizzled. Тропность к тканям печени обнаружена у одного из представителей семейства – белка Secreted Frizzled Related Protein-4 (SFRP4) [12].

SFRP4 – адипокин, экспрессия которого зависит от интенсивности адипогенеза, является ранним маркёром нарушения углеводного обмена [13]. Активность SFRP4 (а, следовательно, участие в воспалительном процессе) во многом связана с рецепторами интерлейкина-1- β (ИЛ-1- β) [14]. Следовательно, теоретически возможна корреляция уровня SFRP4 с развитием НАЖБП. Чтобы проверить данное утверждение, было проведено исследование «случай-контроль».

Цель исследования: апробация нового метода диагностики неалкогольной жировой болезни печени на живом организме методом определения сывороточного уровня маркёра SFRP4 с гистологическим подтверждением результатов.

Материал и методы

Проведено хроническое экспериментальное исследование продолжительностью 6 месяцев на 30-ти крысах-самцах линии Wistar с исходной массой тела $272 \pm 5,0$ г. Животные содержались в условиях вивария медицинского факультета ЧГУ им. И. Н. Ульянова под постоянным наблюдением ветеринарного врача. Кормление, уход экспериментальных животных осуществлялись в соответствии с требованиями нормативной документации «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755). В соответствии с целью и задачами исследования были сформированы две группы экспериментальных животных: контрольная и опытная по 15 крыс в каждой группе. Контрольная (эталонная) группа животных находилась на обычном кормовом (9% жиров, 58% полисахаридов, 33% белка) и питьевом режиме. Опытная группа получала углеводно-жировую диету, созданную по модели «High fat diet» (HFD) (D12492; Research Diets, New Brunswick), содержащую в рационе 60% жира, 10% моносахаридов (в виде сахарозы), 10% полисахаридов и 20% белка.

В качестве объекта исследований морфофункциональных изменений были взяты пробы печени. Аутопсийный биоматериал отбирался на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры дерматовенерологии с курсом гигиены медицинского факультета через 180 дней после начала проведе-

ния эксперимента. Забор крови для биохимических исследований проводили из хвостовой вены в стерильную пробирку без консерванта. Биохимический анализ состава крови животных проводили на базе лаборатории БУ «Президентский перинатальный центр» Минздрава Чувашии.

Патогистологические исследования внутренних органов экспериментальных животных проводили на базе специализированной лаборатории КУ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы» Минздрава Чувашии.

Уровень сывороточного SFRP4 определялся стандартным методом проведения иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-набора ELISA Kit for SFRP4 human (Hangzhou Sunlong Biotech Co., Ltd.) на микропланшетном фотометре (ИФА-Immunochem-2100 (High Technology Inc., США).

Статистические расчёты проводились с использованием компьютерной программы Statistica 10.0 и интернет-ресурса Planetcalc. При сравнении исследуемых групп использовался непараметрический метод расчёта U-критерия Манна-Уитни. Связь между оцениваемыми признаками рассчитывалась при помощи коэффициента Спирмена. моделей регрессии: линейную, квадратичную, кубическую, степенную, логарифмическую, гиперболическую, показательную, экспоненциальную. Результаты сравнительно между собой по корреляции, средней ошибке аппроксимации и наглядно путём построения графиков.

Показатель		Начало эксперимента, Ме [Q1; Q3]	Через 6 месяцев, Ме [Q1; Q3]	Средние значения для крыс линии Wistar
Билирубин общий, мкмоль/л	опыт	1,34 [1,155; 1,475]	1,61 [1,35; 1,78]	< 10,0
	контроль	1,32 [1,15; 1,465]	1,27 [0,925; 1,43]	
АСТ, Ед/л	опыт	117,58 [100,225; 126,35]	170 [156,56; 191,66]*	70–165
	контроль	101,54 [93,905; 123,3]	91,18 [81,41; 111,34]	
АЛТ, Ед/л	опыт	33,98 [24,79; 49,155]	78,47 [69,505; 92,65]*	18–60
	контроль	35,18 [27,9; 41,005]	36,7 [31; 43,85]	
SFRP4, пг/мл	опыт	0,051 [0,032; 0,07]	0,186 [0,1685; 0,2455]*	Нет данных
	контроль	0,052 [0,0375; 0,08]	0,041 [0,032; 0,069]	

Таблица 1.
Средние значения показателей биохимического анализа крови экспериментальных животных в момент начала и к окончанию эксперимента

Примечание:
«*» – различия признака статистически значимы

Результаты и обсуждение

Гистологические исследования печени экспериментальных животных показали, что для контрольной (эталонной) группы крыс характерно сохранение гистоархитектоники органа. Патологических изменений не обнаружено. В образцах опытной группы гепатоциты крупные, набухшие, границы размыты. Цитоплазма печеночных клеток нежно-розовая, однородная или зернистая. Пролиферация желчных протоков умеренная. Отдельные портальные тракты инфильтрированы умеренным числом лимфоцитов, отмечается выход лимфоидных элементов за пределы пограничной пластинки (рис. 1а), а также полнокровие печеночных вен и перипортальных синусоидов органа. В ряде портальных трактов – вазонекротические изменения. Стенки портальных вен гомогенные (рис. 1б). В тканях печени обнаружена баллонная и гиалиново-капельная дистрофия, что проявляется в виде деструктивно-воспалительных изменений.

Распределение выраженности фибротических изменений животных опытной группы можно представить следующим образом (по Metavir): F0 (портальный фиброз отсутствует) – 0%, F1 (портальный фиброз без септ) – 53,33%, F2 (портальный фиброз с небольшим количеством септ) – 33,34%, F3 (многочисленные септы без цирроза) – 13,33%, F4 (цирроз) – 0%.

По данным сравнительных биохимических исследований крови экспериментальных животных опытной группы, проведенных в начале и на 6-й месяц эксперимента, отмечена значимая разница уровней печеночных трансаминаз: аланиламинотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ)

(табл. 1). Более, чем в три раза повысился уровень адипокина SFRP4 (табл. 1).

Известно, что повышение уровней АЛТ и АСТ в крови происходит при повреждении и гибели клеток, в которых содержится этот фермент (прежде всего гепатоцитов), что подтверждено нами в ходе патогистологических исследований внутренних органов экспериментальных животных. Повышение экспрессии SFRP4 свидетельствует о метаболической природе процесса.

В контрольной группе подобных изменений отмечено не было, значимая разница между сравниваемыми показателями не обнаружена (табл. 1).

Определён характер зависимости между уровнем SFRP4 и степенью фиброза печени (рис. 2).

Корреляция сравниваемых параметров прямая, по шкале Чеддока – весьма высокая. Соответственно, рационально рассматривать SFRP4 в качестве параметра, отражающего развитие НАЖБП и, количественно, степень фиброза печени.

Данные коррелируют с результатами международных исследований, отмечавших прямую зависимость экспрессии белка SFRP4 в висцеральном жире с развитием НАЖБП, подтверждают наличие нарушений липидного и углеводного обмена в гепатоцитах при высоких уровнях маркера [14], а также с более ранними экспериментальными данными авторов, предполагающими высокое значение SFRP4 в процессе дифференциальной диагностики метаболических нарушений печени [15].

Таким образом, сделаем вывод, что SFRP4 – сравнительно безопасный неинвазивный метод диагностики НАЖБП и фиброза печени.

Заключение

НАЖБП – часто встречающаяся прогрессирующая патология, связанная с метаболическими изменениями в организме человека. До сегодняшнего дня не были известны пригодные к применению в практической деятельности специфические лабораторные маркеры, позволяющих диагностировать жировые и фибротические изменения в ткани печени. SFRP4 обладает простым методом детекции

(иммуноферментный анализ на стандартном анализаторе) и в опыте на животных показал свою информативность. В случае успешной экстраполяции результатов исследования на организм человека информация станет успешным решением одной из наиболее актуальных проблем современной гепатологии. Следовательно, необходимы полноценные исследования, проведённые на людях.

Литература | References

- Starostina E. G. Nutritional structure and associated factors in type 2 diabetic patients. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(3):240–253. (In Russ.) doi:10.18786/2072–0505–2018–46–3–240–253
Старостина Е. Г. Структура питания и ассоциированные с ней факторы у больных сахарным диабетом 2-го типа. Альманах клинической медицины. 2018; 3(46): 240–253.
- Nath P, Singh SP. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Time to Take the Bull by the Horns. *Euroasian J. Hepato-Gastroenterol*. 2018; 8(1): 47–51. Doi:10.5005/jp-journals-10018-1257.
- Tarasova L. V., Tsyganova Yu. V., Opalinskaya I. V., Ivanova A. L. Overview of laboratory diagnostic methods used in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcoholic liver disease (ALD) at the modern stage. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019; 4 (164): 72–77. (In Russ.) doi:10.31146/1682–8658-ecg-164–4–72–77.
Тарасова Л. В., Цыганова Ю. В., Опалинская И. В., Иванова А. Л. Обзор методов лабораторной диагностики, применяемых при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и алкогольной болезни печени (АБП) на современном этапе. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2019. 4(164): 72–77. doi:10.31146/1682–8658-ecg-164–4–72–77.
- Tarasova L. V., Tsyganova Yu. V., Opalinskaya I. V., Stepashina T. E. Pharmacotherapy of non-alcoholic fatty liver disease: updated data. *Jeftektivnaja farmakoterapija*. – *Effective pharmacotherapy*. 2020; 1(16): 70–73. (In Russ.). doi:10.33978/2307–3586–2020–16–1–70–73.
Тарасова Л. В., Цыганова Ю. В., Опалинская И. В., Степашина Т. Е. Фармакотерапия неалкогольной жировой болезни печени: обновленные данные. Эффективная фармакотерапия. 2020; 1(16): 70–73.
- Long Wang, Jinghui Guo, Jianping Lu. Risk factor compositions of nonalcoholic fatty liver disease change with body mass index in males and females. *Oncotarget*. 2016; 7(24): 35632–35642.
- Takahashi Y., Fukusato T. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(42): 15539–48. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15539.
- Sakhuja P. Pathology of alcoholic liver disease, can it be differentiated from nonalcoholic steatohepatitis? *World J Gastroenterol*. 2014; 20(44): 16474–9. doi: 10.3748/wjg.v20.i44.16474.
- Toshikuni N, Tsutsumi M, Arisawa T. Clinical differences between alcoholic liver disease and non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014; 20 (26): 8393–8406. DOI: 10.3748/wjg.v20.i26.8393.
- Preis S. R., Massaro J. M., Robins S. J., et al. Abdominal subcutaneous and visceral adipose tissue and insulin resistance in the Framingham heart study. *Obesity (Silver Spring)*. 2010; 11(18): 2191–2198. Doi:10.1038/oby.2010.59.
- Elpek G. Ö. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J. Gastroenterol*. 2014; 23(20): 7260–7276. Doi:10.3748/wjg.v20.i23.7260.
- Renée van Amerongen, Roel Nusse. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development*. 2009; 136: 3205–3214. Doi:10.1242/dev.033910.
- Hörbelt, T., Knebel, B., Fahlbusch, P., Barbosa, D. et al. The adipokine sFRP4 induces insulin resistance and lipogenesis in the liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2019; 10: 2671–2684. Doi:10.1016/j.bbdis.2019.07.008.
- Bukhari SA, Yasmin A, Zahoor MA, Mustafa G, Sarfraz I, Rasul A. Secreted frizzled-related protein 4 and its implication in obesity and type-2 diabetes. *IUBMB Life*. 2019; 71(11): 1701–1710. Doi:10.1002/iub.2123.
- Guan H, Zhang Y, Gao S, Bai L, Zhao S, Cheng XW, Fan J, Liu E. Differential Patterns of Secreted Frizzled-Related Protein 4 (SFRP4) in Adipocyte Differentiation: Adipose Depot Specificity. *Cell Physiol. Biochem*. 2018; 46(5): 2149–2164. Doi:10.1159/000489545.
- Tarasova L. V., Diomidova V. N., Tsyganova Yu. V. Secreted frizzled-related protein-4 as one of the indicators of differential diagnosis of fatty liver diseases. *Vestnik SurGU. Medicina*. 2019;(1):73–77. (In Russ.)
Тарасова Л. В., Диомидова В. Н., Цыганова Ю. В. Secreted frizzled related protein-4 как один из показателей дифференциальной диагностики жировых болезней печени. Вестник СурГУ. Медицина. 2019, 1 (39): 73–77.

К статье

Экспрессия адипокина (secreted frizzled related protein-4) коррелирует с выраженностью жировых отложений в печени (стр. 44–48)

To article

Correlation of secreted frizzled related protein-4 adipokin expression and expression of fatty liver changes under the conditions of a chronic experiment (p. 44–48)

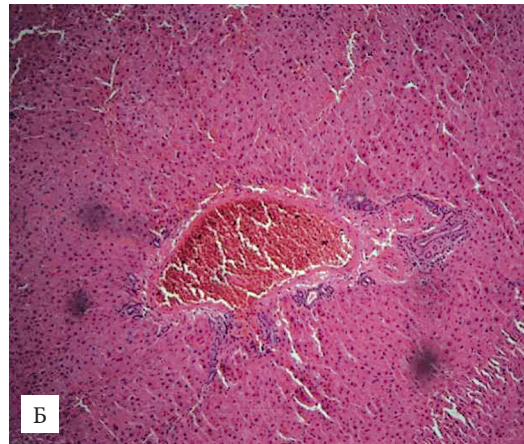
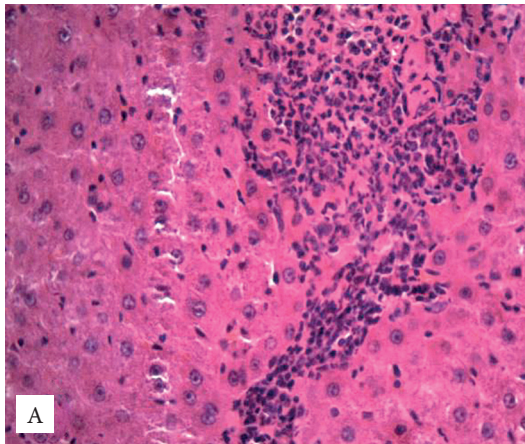


Рисунок 1.

Печень, опытная группа.
Окраска гематоксилин-эозином.
а – лимфоцитарный ин-
фильтрат в строме органа,
ув. $\times 150$;
б – однородная стенка пор-
тальной вены, ув. $\times 150$.

Рисунок 2.

Графическое представление различных видов регрессии при определении корреляции уровня SFRP4 и степени фиброза печени

