

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-235-3-66-78>

## Жирные кислоты мембран эритроцитов и сыворотки крови как биомаркеры для дифференцирования начального и выраженного фиброза у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза

Кручинина М.В.<sup>1,2</sup>, Осипенко М.Ф.<sup>2</sup>, Букарев Р.А.<sup>1</sup>, Макарова Ю.В.<sup>2</sup>, Громов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», (ул. Бориса Богаткова 175/1, г. Новосибирск, 630089, Россия)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (Красный проспект 52, г. Новосибирск, 630091, Россия)

**Для цитирования:** Кручинина М.В., Осипенко М.Ф., Букарев Р.А., Макарова Ю.В., Громов А.А. Жирные кислоты мембран эритроцитов и сыворотки крови как биомаркеры для дифференцирования начального и выраженного фиброза у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(3): 66–78 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-235-3-66-78

### ✉ Для переписки:

**Кручинина  
Маргарита  
Витальевна**  
kruchmargo  
@yandex.ru

**Кручинина Маргарита Витальевна**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией гастроэнтерологии, ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии НИИ терапии и профилактической медицины; профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней  
**Осипенко Марина Федоровна**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней  
**Букарев Рудольф Александрович**, ординатор лаборатории гастроэнтерологии НИИ терапии и профилактической медицины  
**Макарова Юлия Викторовна**, к.м.н., ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней  
**Громов Андрей Александрович**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, руководитель Центра профилактики тромбозов

## Резюме

**Цель работы:** изучить возможности использования уровней жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови для различения начального и выраженного фиброза у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза (алкогольный + метаболический).

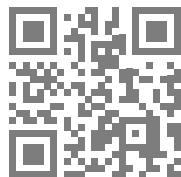
**Материалы и методы.** Обследовано 110 пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного (алкогольный + метаболический) генеза, средний возраст –  $47,9 \pm 9,8$  лет. В зависимости от степени фиброза пациенты были разделены на две группы – 1 группа с невыраженным фиброзом (F0–1) (n=76), 2 группа – с выраженным фиброзом (F2–4) (n=34) (FibroScan® 502 (Echosens, Франция). Содержание жирных кислот (ЖК) в мембранах эритроцитов и сыворотки крови определено с помощью методов газовой хроматографии/масс-спектрометрии (Agilent 7000B (США).

**Результаты.** Выявлены жирные кислоты мембран эритроцитов и сыворотки крови, уровни которых позволили различить пациентов с начальным и выраженным фиброзом с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного (алкогольный + метаболический) генеза.

Выраженная степень фиброза (F2–4) оказалась ассоциированной с повышенными уровнями суммарного содержания насыщенных ( $p=0,00018$ ), стеариновой C18:0 ( $p=0,001$ ), пальмитиновой C16:0 ( $p=0,004$ ), лауриновой C12:0 ( $p=0,07$ ), отношения НЖК/ННЖК ( $p=0,0018$ ) в мембранах эритроцитов и сывороточными уровнями НЖК/ННЖК ( $p=0,008$ ), дигомо-γ-линоленовой C20:3n-6 ( $p=0,04$ ). Напротив, при выраженном фиброзе печени по сравнению с начальными стадиями установлены более низкие уровни сывороточной пентадекановой кислоты C15:0 ( $p=0,04$ ), эритроцитарной α-линоленовой C18:3n-3 ( $p=5,45e-10$ ), суммарного содержания МНЖК ( $p=6,83e-08$  для мембран эритроцитов и  $p=5,55e-06$  для сыворотки крови), отдельных МНЖК (для эритроцитарной элаидиновой t-C18:1 –  $p=2,42e-06$ , для ее сывороточного уровня –  $p=0,0002$ ; для сывороточной 7-пальмитолеиновой 7-C16:1 –  $p=0,0003$ ; для сывороточной пальмитолеиновой 9-C16:1 –  $p=0,013$ ; для ее уровня в мембранах эритроцитов –  $p=0,042$ ); более низкие концентрации двух омега-6 ПНЖК как в мембранах эритроцитов (для гексадекадиеновой C16:2n-6 –  $p=2,69e-07$ , для эйкозадиеновой C20:2n-6 –  $p=8,52e-07$ ), так и в сыворотке крови (для C16:2n-6 –  $p=1,33e-05$ , для C20:2n-6 –  $p=0,002$ ).

Оптимальной для дифференцирования групп пациентов со степенью фиброза F2–4 от F0–1 оказалась панель, включающая эритроцитарные уровни двух жирных кислот и суммарное содержание мононенасыщенных жирных кислот – C20:2n-6, МНЖК, C16:2n-6, которая обеспечила AUC 0,862 (95% ДИ 0,781–0,94), чувствительность 88,8%, специфичность 86,4%.

EDN: KI0STZ



**Выводы.** Жирные кислоты мембран эритроцитов, сыворотки крови следует рассматривать как перспективные диагностические маркеры и потенциальные таргеты для терапевтических воздействий для предотвращения прогрессирования фиброза печени у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза.

**Ключевые слова:** жировая болезнь печени, алкогольный, смешанный генез, степень фиброза печени, жирные кислоты, эритроциты, сыворотка, диагностика

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Erythrocyte and serum membrane fatty acids as biomarkers for differentiation of initial and advanced fibrosis in patients with fatty liver disease of alcoholic and mixed genesis

M.V. Kruchinina<sup>1,2</sup>, M.F. Osipenko<sup>2</sup>, R.A. Bukarev<sup>1</sup>, Yu.V. Makarova<sup>2</sup>, A.A. Gromov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, (175/1, Boris Bogatkov Str., Novosibirsk, 630089, Russia)

<sup>2</sup> Novosibirsk State Medical University, (52, Krasny Prospekt, Novosibirsk, 630091, Russia)

**For citation:** Kruchinina M.V., Osipenko M.F., Bukarev R.A., Makarova Yu.V., Gromov A.A. Erythrocyte and serum membrane fatty acids as biomarkers for differentiation of initial and advanced fibrosis in patients with fatty liver disease of alcoholic and mixed genesis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(3): 66–78. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-235-3-66-78

✉ **Corresponding author:**

**Margarita V. Kruchinina**  
kruchmargo  
@yandex.ru

**Margarita V. Kruchinina**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Gastroenterology Laboratory, Leading Researcher of the Gastroenterology Laboratory; Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases; ORCID: 0000-0003-0077-3823

**Marina F. Osipenko**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases; ORCID: 000-0002-5156-2842

**Rudolf A. Bukarev**, resident of the gastroenterology laboratory

**Yulia V. Makarova**, Ph.D., assistant of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases; ORCID: 0009-0001-9291-9414

**Andrey A. Gromov**, PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Studies of Therapeutic Diseases, Head of the Thrombosis Prevention Center; ORCID: 0000-0001-9254-4192

### Summary

**The aim of the work:** to study the possibilities of using the levels of fatty acids in the membranes of erythrocytes and blood serum to distinguish between initial and severe fibrosis in patients with fatty liver disease of alcoholic and mixed genesis (alcoholic + metabolic).

**Materials and methods.** 110 patients with fatty liver disease of alcoholic and mixed genesis were examined, the average age was  $47.9 \pm 9.8$  years. Depending on the degree of fibrosis, patients were divided into two groups – group 1 with mild fibrosis (F0–1) (n=76), group 2 – with severe fibrosis (F2–4) (n=34) (FibroScan® 502 (Echosens, France). The content of fatty acids (FA) in the membranes of erythrocytes and blood serum was determined using gas chromatography/mass spectrometry (Agilent 7000B (USA).

**Results.** Fatty acids of the membranes of erythrocytes and blood serum were identified, the levels of which made it possible to distinguish between patients with initial and severe fibrosis with fatty liver disease of alcoholic and mixed (alcoholic + metabolic) genesis.

Severe fibrosis (F2–4) was associated with increased levels of total saturated ( $p=0.00018$ ), stearic C18:0 ( $p=0.001$ ), palmitic C16:0 ( $p=0.004$ ), lauric C12:0 ( $p=0.07$ ), the SFA/MUFA ratio ( $p=0.0018$ ) in erythrocyte membranes and serum SFA/MUFA levels ( $p=0.008$ ), dihomo- $\gamma$ -linolenic C20:3n-6 ( $p=0.04$ ). On the contrary, in severe liver fibrosis, compared with the initial stages, lower levels of serum pentadecanoic acid C15:0 ( $p=0.04$ ), erythrocyte  $\alpha$ -linolenic C18:3n-3 ( $p=5.45e-10$ ), total MUFA content ( $p=6.83e-08$  for erythrocyte membranes and  $p=5.55e-06$  for blood serum), individual MUFA (for erythrocyte elaidic t-C18:1 –  $p=2.42e-06$ , for its serum level –  $p=0.0002$ ; for serum 7-palmitoleic 7-C16:1 –  $p=0.0003$ ; for serum palmitoleic 9-C16:1 –  $p=0.013$ ; for its level in erythrocyte membranes –  $p=0.042$ ); lower concentrations of two omega-6 PUFAs both in erythrocyte membranes (for hexadecadienoic C16:2n-6 –  $p=2.69e-07$ , for eicosadienoic C20:2n-6 –  $p=8.52e-07$ ) and in blood serum (for C16:2n-6 –  $p=1.33e-05$ , for C20:2n-6 –  $p=0.002$ ).

A panel including erythrocyte levels of two fatty acids and total monounsaturated fatty acids – C20:2n-6, MUFA, C16:2n-6 – was optimal for differentiating groups of patients with fibrosis grade F2–4 from F0–1, which provided an AUC of 0.862 (95% CI 0.781–0.94), sensitivity of 88.8%, specificity of 86.4%.

**Conclusions.** Fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum should be considered as promising diagnostic markers and potential targets for therapeutic interventions to prevent the progression of liver fibrosis in patients with fatty liver disease of alcoholic and mixed genesis.

**Keywords:** fatty liver disease, alcoholic, mixed genesis, degree of liver fibrosis, fatty acids, erythrocytes, serum, diagnostics

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

## Введение

Неалкогольная и алкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП, АЖБП), наиболее распространенные хронические заболевания печени в западных странах, включают стеатоз и стеатогепатит, причем последний имеет потенциал прогрессировать с развитием фиброза до цирроза, гепатоцеллюлярной карциномы [1]. Наличие двух этиологических факторов (алкоголь + метаболический) является наиболее частым в клинической практике и предполагает их потенцирующее действие как на прогрессирование диффузной патологии печени, так и на смертность от других причин [1, 2, 3].

Степень фиброза печени определяет прогноз пациентов с жировой болезнью печени (ЖБП) и является значимым предиктором смертности при этом заболевании [4, 5]. Механизмы фиброгенеза при ЖБП до сих пор изучены недостаточно [6]. Недавние липидомные исследования выявили выраженные изменения в профиле жирных кислот и составе фосфолипидов в образцах печени пациентов с ЖБП, что позволяет предположить, что нарушения липидного обмена являются ключевым фактором патогенеза и прогрессирования данной патологии [7, 8].

Изменения, происходящие в молекулах липидов плазмы, эритроцитов, идентифицированные липидомными методами, которые невозможно определить в повседневной клинической практике, могут быть полезны в качестве неинвазивных биомаркеров прогрессирования фиброза при ЖБП [9, 10, 11]. Основание для этого дают исследования, в которых показаны корреляции изменений в циркулирующем липидоме со сдвигами в ткани печени при прогрессировании заболевания [12]. Ассоциации уровней жирных кислот сыворотки крови, мембран эритроцитов с разными стадиями фиброза печени значимы для разработки подходов к диагностике, более глубокому пониманию механизмов прогрессирования фиброза при жировой болезни печени различного генеза, а также как потенциальные таргеты для терапевтических воздействий.

**Цель исследования** – изучить возможности использования уровней жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови для различения начального и выраженного фиброза у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза (алкогольный + метаболический).

## Материалы и методы

Обследовано 110 пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного (алкогольный + метаболический) генеза, средний возраст –  $47,9 \pm 9,8$  лет. Обследование включало сбор анамнеза, клиничко-лабораторные и инструментальные исследования для оценки состояния заболевания по клиническим показаниям. ЖБП диагностирована с помощью ультразвукового исследования органов брюшной полости в соответствии с УЗИ-критериями патологии [13]. Диагноз был подтвержден значениями индекса стеатоза печени FLI (Fatty liver index), превышающими 60. Алкогольный генез ЖБП устанавливался в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями «Алкогольная болезнь печени у взрослых» [14]. Разовая доза потребляемого алкоголя в пересчете на чистый этанол составляла ( $> 60$  г) и недельная ( $> 420$  г) [15]. Смешанная этиология (метаболическая + алкогольная) диагностировалась в случае регулярного потребления алкоголя пациентами с проявлениями метаболического синдрома согласно Рекомендациям экспертов ВНОК [16]. У больных с ЖБП смешанного генеза выявлены проявления метаболического

синдрома – в качестве основного критерия – абдоминальный тип ожирения; как дополнительные критерии – артериальная гипертензия, дислипидемия, гипергликемия. Достоверным метаболический синдром считали при наличии 3 критериев – 1 основного и 2 дополнительных [16]. В процессе обследования у пациентов были исключены другие причины ЖБП. У всех обследованных методом непрямого эластометрии на аппарате FibroScan® 502 (Echosens, Франция) [17] определена степень выраженности фиброза печени с градацией от 0 до 4. В зависимости от степени фиброза пациенты были разделены на две группы – 1 группа с невыраженным фиброзом (F0–1) ( $n=76$ ), 2 группа – с выраженным фиброзом (F2–4) ( $n=34$ ). Алкогольный генез диффузной патологии печени был диагностирован у 27 мужчин первой и у 16 пациентов второй групп; смешанный генез – в 49 и 18 случаях, соответственно. У 20 пациентов второй группы верифицирован цирроз печени алкогольного (у 12 пациентов) и смешанного генеза (в 8 случаях) с преобладанием степеней компенсации А по Чайлд-Пью (у 12 пациентов), в 6 случаях установлен класс В, в двух – класс С.

Содержание жирных кислот (ЖК) в мембранах эритроцитов и сыворотки крови определено с помощью методов газовой хроматографии/масс-спектрометрии (Agilent 7000B (США). Концентрации ЖК выражали в относительных процентах. Предел обнаружения ЖК ~ 1 мкг на образец [18].

Статистический анализ полученных результатов выполнен с применением программы SPSS, ver. 17. Использован метод Колмогорова–Смирнова для оценки характера распределения признаков. При отсутствии нормального распределения вычислялись медианы (Me) с указанием межквартильного размаха – 25-й и 75-й процентиля. Достоверность различия показателей оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Критический уровень значимости нулевой гипотезы ( $p$ )

принимался равным 0,05. Уровни жирных кислот перед проведением статистического анализа были нормализованы. Затем выполнены ортогональный дискриминантный анализ методом наименьших квадратов, исследование методом Volcano plot, проведен ROC-анализ. В работе использована система методов машинного обучения – Random Forest с программным обеспечением MATLAB (R2019a, MathWorks), языка программирования R с применением стандартных библиотек обучающих классификаций и наборов инструментов статистики [19].

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБНУ «НИИ терапии и профилактической медицины» (протокол заседания № 122 от 29.11.2016). Все обследованные дали информированное согласие на участие в работе.

## Результаты

Пациенты с выраженным фиброзом печени оказались старше по сравнению с группой F0–1 ( $50,9 \pm 8,2$  лет против  $46,6 \pm 10,2$  лет,  $p=0,019$ ). По антропометрическим показателям (индексу массы тела, окружности талии) пациенты обеих групп были сопоставимы. В то же время уровни систолического и диастолического АД в группе с выраженным фиброзом оказались выше (для САД  $p=0,028$ , для ДАД  $p=0,001$ ). В группе с фиброзом 2–4 степени были выше частота стигм потребления алкоголя, чем при невыраженном фиброзе: полинейропатии ( $p=0,0001$ ), мышечной атрофии ( $p=0,0001$ ), гипергидроза ( $p=0,004$ ), гинекомастии ( $p=0,003$ ), увеличения околушных желез ( $p=0,028$ ), контрактуры Дюпюитрена ( $p=0,001$ ), следов травм, переломов ( $p=0,0001$ ), телеангиэктазий ( $p=0,0001$ ), пальмарной эритемы ( $p=0,0001$ ), нарушений поведения ( $p=0,0001$ ). Пациенты с выраженным фиброзом потребляли более высокие разовую и недельные дозы алкоголя, чем в группе с начальным фиброзом (разовая доза  $223,3 \pm 136,9$  против  $96,6 \pm 50,9$  граммов в пересчете на чистый этанол и недельная доза  $1663,2 \pm 3099,4$  против  $252,1 \pm 123,8$  граммов – для F2–4 и F0–1, соответственно,  $p=0,0001$ ). Пациенты с выраженным фиброзом имели более длительный стаж злоупотребления алкоголем, чем при легком фиброзе ( $14,4 \pm 3,1$  лет против  $12,9 \pm 4,6$  лет,  $p=0,0001$ ). Пациенты обеих групп потребляли алкоголь более раза в неделю (преимущественно 2–3 раза в неделю или ежедневно) с предпочтением крепких алкогольных напитков или их сочетания с пивом в 67,9% случаях в группе с F0–1 и в 84,4% – в группе с F2–4. Статистически более высокое количество баллов по опросникам CAGE, AUDIT у пациентов с выраженным фиброзом по сравнению с начальным, превышающее 3 для CAGE и 20 для AUDIT, свидетельствует о высоком риске развития алкогольной зависимости и алкогольного поражения печени у пациентов группы F2–4 (для CAGE  $3,6 \pm 0,62$  против  $2,8 \pm 0,82$  баллов,  $p=0,0001$ ; для AUDIT  $29,2 \pm 9,3$  против  $14,0 \pm 4,1$  баллов,  $p=0,0001$ ).

При анализе биохимических показателей у пациентов с выраженным фиброзом оказались более выраженными проявления синдрома цитолиза, нарушения белоксинтетической функции печени,

более высокие уровни маркеров воспаления. Так, в группе F2–4 установлены более высокая активность АСТ по сравнению с F0–1 ( $82,4 \pm 44,2$  Ед/л против  $41,8 \pm 15,7$  Ед/л,  $p=0,001$ ), величина коэффициента де Ритиса ( $1,44 \pm 0,42$  против  $1,06 \pm 0,39$ ,  $p=0,0001$ ), уровня прямого билирубина ( $50,4 \pm 82,7$  мкмоль/л против  $5,4 \pm 2,5$  мкмоль/л,  $p<0,05$ ). Высокая активность ГГТП в группе с выраженным фиброзом отражала более высокие дозы систематически потребляемого алкоголя ( $201 \pm 207,6$  Ед/л против  $59,6 \pm 29,3$ ,  $p=0,0001$ ). Более низкие уровни общего белка и альбумина в группе с выраженным фиброзом по сравнению с его начальными стадиями отражают большую выраженность печеночно-клеточной недостаточности в группе F2–4 (для уровня общего белка –  $68,9 \pm 5,3$  г/л против  $73,3 \pm 4,6$ ,  $p=0,004$ ; для уровня альбумина  $38,4 \pm 6,0$  г/л против  $43,7 \pm 2,7$ ,  $p=0,0001$ ). В группе с выраженным фиброзом по сравнению с начальными стадиями выявлены более высокие уровни маркеров воспаления – С-реактивного белка ( $25,4 \pm 32,4$  мг/л против  $4,5 \pm 1,3$  мг/л,  $p=0,016$ ), СОЭ ( $31,2 \pm 10,9$  мм/ч против  $11,7 \pm 5,8$  мм/ч,  $p<0,05$ ), уровень лейкоцитов ( $8,5 \pm 3,9 \times 10^9$ /л против  $7,1 \pm 1,9 \times 10^9$ /л,  $p=0,048$ ).

Показатели липидного профиля, обмена железа, пуринового обмена, уровень глюкозы в группах с F2–4 и F0–1 не различались ( $p>0,1$ ).

При анализе показателей красной крови у пациентов с выраженным фиброзом по сравнению с его начальными стадиями выявлены более низкое количество эритроцитов ( $3,82 \pm 0,81 \times 10^{12}$ /л против  $4,89 \pm 0,7 \times 10^{12}$ /л,  $p=0,0001$ ), тромбоцитов ( $191,8 \pm 65,8 \times 10^9$ /л против  $243,6 \pm 59,9 \times 10^9$ /л,  $p=0,004$ ), уровень гемоглобина ( $126,4 \pm 13,4$  г/л против  $150,9 \pm 18,7$  г/л,  $p=0,0001$ ), гематокрита ( $38,6 \pm 5,5\%$  против  $45,3 \pm 4,8\%$ ,  $p=0,0001$ ). Напротив, цветовой показатель в группе F2–4 оказался выше, чем в группе F0–1 ( $1,05 \pm 0,06$  против  $0,96 \pm 0,05$ ,  $p=0,005$ ), а средний корпускулярный объем эритроцитов имел тенденцию к повышению ( $102,8 \pm 9,6$  мкм<sup>3</sup> против  $92,9 \pm 8,9$  мкм<sup>3</sup>,  $p=0,065$ ).

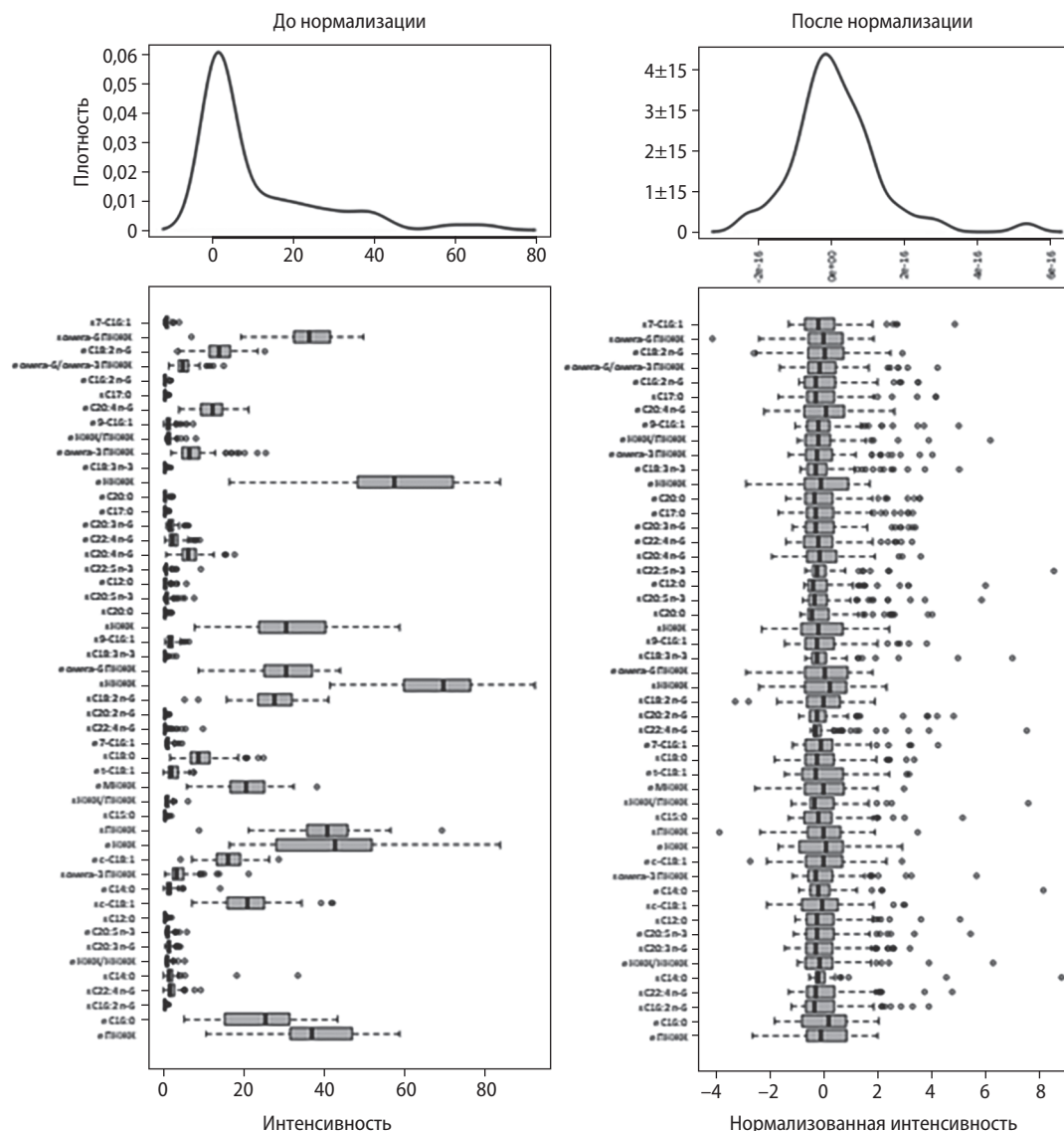
Таким образом, в группе пациентов с выраженным фиброзом печени алкогольного и смешанного генеза (алкогольный + метаболический) по сравнению с группой с начальными стадиями фиброза

**Рисунок 1.**

Нормализация уровней жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с жировой болезнью печени с разной степенью фиброза.

**Figure 1.**

Normalization of fatty acid levels in erythrocyte membranes and blood serum in patients with fatty liver disease with varying degrees of fibrosis.



печени преобладали мужчины более старшего возраста с более длительным стажем злоупотребления крепкими алкогольными напитками в сверхтоксических дозах с высоким риском наличия зависимости и алкогольного поражения печени с выраженными проявлениями синдрома цитолиза, нарушения белоксинтетической функции печени, с проявлениями высокоуровневого воспаления, синдрома гиперсплениза. В 58,8% случаях у мужчин группы F2–4 диагностирован цирроз печени с преобладанием частоты степени компенсации А по Чайлд-Пью.

У пациентов обеих групп произведена нормализация уровней жирных кислот в мембранах эритроцитов и сыворотке крови (рис. 1).

На следующем этапе выполнен ортогональный дискриминантный анализ методом наименьших квадратов (рис. 2), который позволил выявить наряду с зонами пересечения «облаков», непересекающиеся области, отражающие наличие перечня жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови, которые дифференцируют пациентов с выраженными и начальными стадиями фиброза печени.

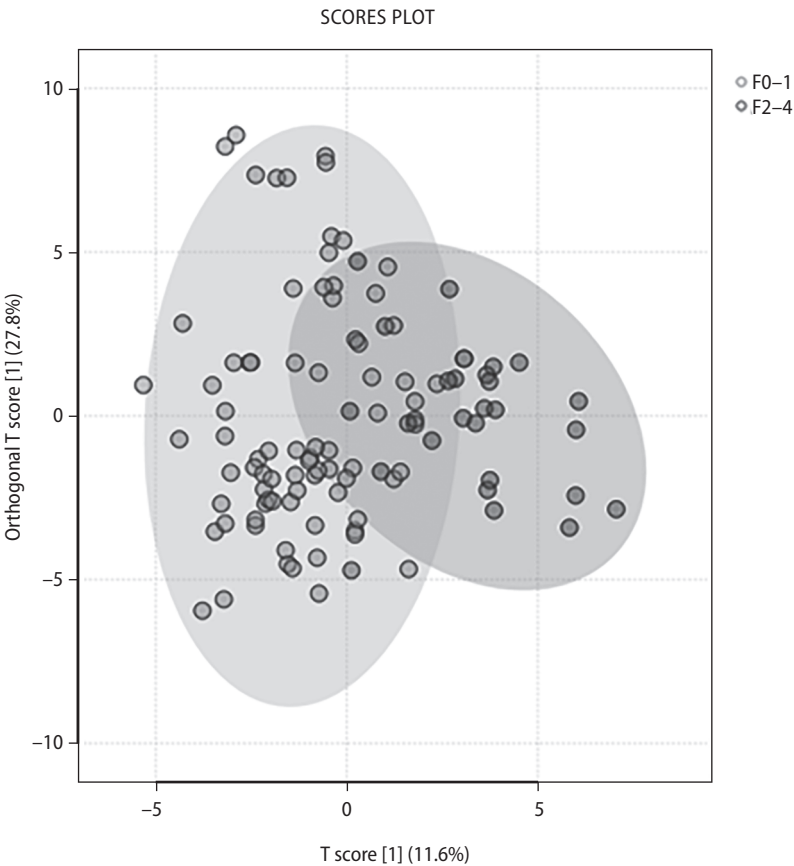
Затем был произведен анализ уровней жирных кислот методом Volcano-plot для выявления маркеров, дифференцирующих выраженный и начальный фиброз у пациентов с ЖБП алкогольного и смешанного генеза (табл. 1).

В соответствии с данными таблицы 1 выраженная степень фиброза оказалась ассоциированной с повышенными уровнями суммарного содержания НЖК ( $p=0,00018$ ), стеариновой C18:0 ( $p=0,001$ ), пальмитиновой C16:0 ( $p=0,004$ ), лауриновой C12:0 ( $p=0,07$ ), отношения НЖК/ННЖК ( $p=0,0018$ ) в мембранах эритроцитов и сывороточными уровнями НЖК/ННЖК ( $p=0,008$ ), дигомо- $\gamma$ -линоленовой C20:3n-6 ( $p=0,04$ ).

Напротив, при выраженном фиброзе печени по сравнению с начальными стадиями фиброза установлены более низкие уровни сывороточной пентадекановой кислоты C15:0 ( $p=0,04$ ), эритроцитарной  $\alpha$ -линоленовой C18:3n-3 ( $p=5,45e-10$ ), суммарного содержания МНЖК ( $p=6,83e-08$  для мембран эритроцитов и  $p=5,55e-06$  для сыворотки крови), отдельных мононенасыщенных кислот (для эритроцитарной элаидиновой t-C18:1 –  $p=2,42e-06$ , для ее сывороточного

**Рисунок 2.** Ортогональный дискриминантный анализ методом наименьших квадратов для уровней жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с выраженным фиброзом F2–4 (зеленое облако, зеленые точки) и начальным фиброзом F0–1 (розовое облако, розовые точки) у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза.

**Figure 2.** Orthogonal least squares discriminant analysis of erythrocyte membrane and serum fatty acid levels in patients with advanced fibrosis F2–4 (green clouds, green dots) and early fibrosis F0–1 (pink cloud, pink dots) in patients with alcoholic and mixed fatty liver disease.



**Таблица 1.** Жирные кислоты мембран эритроцитов – потенциальные биомаркеры для различия выраженного и начального фиброза печени у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза (данные получены при использовании Volcano plot, непарная статистика)

**Примечание:** «е» – содержание жирных кислот в мембранах эритроцитов, «s» – содержание жирных кислот в сыворотке крови;

**Сокращения:** МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; НЖК – насыщенные жирные кислоты; ННЖК – ненасыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты.

Жирные кислоты	Кратность изменений	log2(FC)	Значения p (raw.p val.)	-log10(p)
e C18:3n-3	3,3124	1,7279	5,4519e-10	9,2635
e МНЖК	1,3432	0,42565	6,8388e-08	7,165
e C16:2n-6	2,6327	1,3965	2,6927e-07	6,5698
e C20:2n-6	1,8938	0,92128	8,5282e-07	6,0691
e t-C18:1	1,813	0,8584	2,4282e-06	5,6147
s МНЖК	1,33	0,41146	5,5573e-06	5,2551
s C16:2n-6	2,2883	1,1943	1,3388e-05	4,8733
e НЖК	0,73899	-0,43637	0,000188	3,725
s t-C18:1	1,6353	0,70954	0,000209	3,6792
s 7-C16:1	1,666	0,73635	0,00033	3,4804
e C18:0	0,68836	-0,53877	0,00105	2,9777
e НЖК/ННЖК	0,5349	-0,90266	0,00186	2,7287
s C20:2n-6	1,7973	0,84586	0,00225	2,6475
e НЖК/ПНЖК	0,56548	-0,82244	0,004230	2,3736
e C16:0	0,75677	-0,40207	0,004565	2,3406
s НЖК/ННЖК	0,72023	-0,47347	0,00863	2,0638
s 9-C16:1	1,3944	0,47968	0,013856	1,8584
s C15:0	1,3314	0,41292	0,040414	1,3935
s C20:3n-6	1,3043	-0,38326	0,042537	1,3712
e 9-C16:1	1,4522	0,5382	0,04284	1,3681
e C12:0	0,54311	-0,88068	0,07992	1,0973

уровня –  $p=0,0002$ ; для сывороточной 7-пальмитолеиновой 7-C16:1 –  $p=0,0003$ ; для сывороточной пальмитолеиновой 9-C16:1 –  $p=0,013$ ; для ее уровня в мембранах эритроцитов –  $p=0,042$ ).

Степень фиброза 2–4 оказалась связанной с более низкими концентрациями двух омега-6 ПНЖК как в мембранах эритроцитов (для гексадекадиеновой

C16:2n-6 –  $p=2,69e-07$ , для эйкозадиеновой C20:2n-6 –  $p=8,52e-07$ ), так и в сыворотке крови (для C16:2n-6 –  $p=1,33e-05$ , для C20:2n-6 –  $p=0,002$ ).

На рис. 3 представлено распределение жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови по их вкладу в различие выраженного и невыраженного фиброза у пациентов с ЖБП.

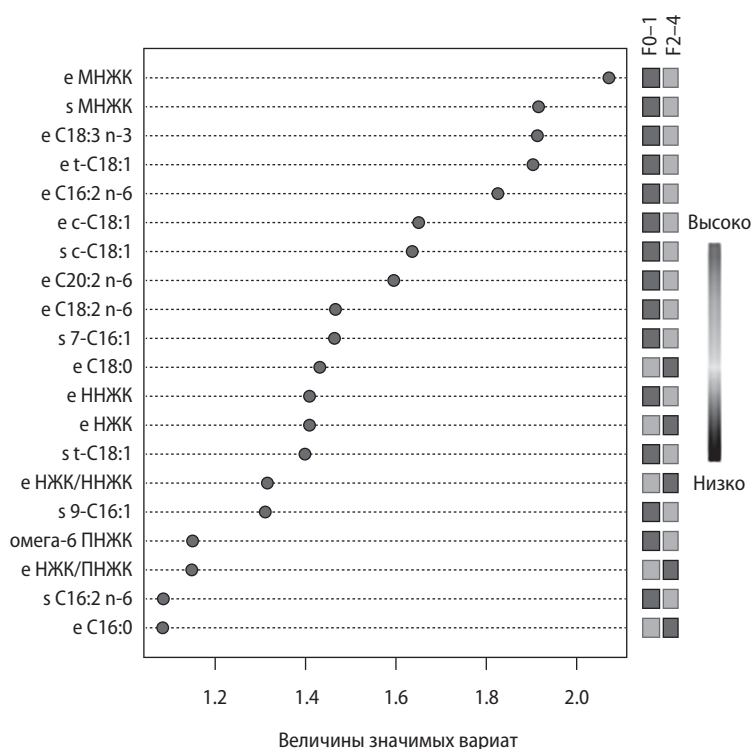


Рисунок 3.

Распределение жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови по степени их вклада в различие выраженного и невыраженного фиброза у пациентов с жировой болезнью печени

Figure 3.

Distribution of fatty acids in erythrocyte membranes and blood serum according to the degree of their contribution to distinguishing between pronounced and unpronounced fibrosis in patients with fatty liver disease.



При проведении ROC-анализа уровни отдельных жирных кислот и их суммарное содержание в мембранах эритроцитов позволяли различить пациентов с начальным и выраженным фиброзом при ЖБП с разной диагностической точностью (рис. 4 А-Г).

Так, концентрация эйкозодиеновой кислоты в мембранах эритроцитов C20:2n-6 обеспечила AUC 0,839 (95% ДИ 0,738–0,913), чувствительность 69%, специфичность 89,9% при различении пациентов с F2–4 от группы с F0–1 (рис. 4А). Суммарное содержание эритроцитарных мононенасыщенных жирных кислот продемонстрировало AUC 0,823 (95% ДИ 0,736–0,891), чувствительность 82,8%, специфичность 69,6% (рис. 4Б). Уровень

$\alpha$ -линоленовой ЖК в мембранах эритроцитов C18:3n-3 показал AUC 0,806 (95% ДИ 0,709–0,895), чувствительность 75,9%, специфичность 77,2% (рис. 4В), а гексадекадиеновой кислоты C16:2n-6 – AUC 0,809 (95% ДИ 0,712–0,886), чувствительность 72,4%, специфичность 73,4% (рис. 4Г). Включение в состав моделей от 3-х до 62 жирных кислот обеспечивало AUC от 0,81 до 0,894 (рис. 4Д). Оптимальной оказалась модель, представленная на рис. 4Е, которая при минимальном количестве входящих в ее состав жирных кислот (эритроцитарные C20:2n-6, МНЖК, C16:2n-6) имела AUC 0,862 (95% ДИ 0,781–0,94), чувствительность 88,8%, специфичность 86,4%.

## Обсуждение

По данным настоящего исследования выявлено, что значимыми для различения начального и выраженного фиброза оказались повышенные уровни насыщенных ЖК (как суммарное содержание, так и отдельные – пальмитиновая, стеариновая), омега-6 полиненасыщенной дигомо- $\gamma$ -линоленовой, увеличенные соотношения НЖК/ННЖК, НЖК/ПНЖК, ассоциированные с выраженным фиброзом. Напротив, повышенные концентрации насыщенной пентадекановой, омега-3 полиненасыщенной  $\alpha$ -линоленовой, суммарное содержание мононенасыщенных ЖК и отдельных представителей этого класса ЖК (элаидиновой, пальмитолеиновой), а также двух омега-6 ПНЖК – гексадекадиеновой и эйкозодиеновой были ассоциированы с начальными стадиями фиброза и также имели высокую значимость для дифференцирования степеней фиброза.

Многочисленные исследования продемонстрировали, что состав жирных кислот липидов

изменяется у пациентов с ЖБП по мере прогрессирования заболевания. Было обнаружено, что общее количество насыщенных жирных кислот увеличивается в биоптатах печени пациентов со стеатозом [20], в частности, миристиновой и пальмитиновой кислот при стеатогепатите [21], как и содержание этих кислот в эфирах холестерина и триглицеридах [22], фосфолипидов сыворотки [23]. В качестве основных причин повышенного содержания НЖК рассматривают усиление липогенеза *de novo* и избыточное диетическое поступление этого класса жирных кислот [24]. Так, López-Bautista F. et al. выявили более высокое потребление миристиновой кислоты у пациентов с НАЖБП с выраженным фиброзом ( $p=0,021$ ) и установили прямые корреляции между потреблением пальмитиновой кислоты ( $r^2=0,33$ ;  $p=0,003$ ), стеариновой ( $r^2=0,32$ ;  $p=0,005$ ) и степенью фиброза печени [25]. Липотоксичность НЖК связывают со стрессом эндоплазматического ретикулума, повышенной активацией каспазы

Рисунок 4.

ROC-кривые при дифференцировании выраженных стадий фиброза печени от начальных у пациентов с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного генеза:

А. для эритроцитарного уровня эйкозадиеновой кислоты C20:2n-6;  
Б. для суммарного содержания мононенасыщенных жирных кислот в мембранах эритроцитов;  
В. для эритроцитарного уровня  $\alpha$ -линоленовой кислоты C18:3n-3;  
Г. для эритроцитарного уровня гексадекадиеновой C16:2n-6;  
Д. для комбинированных моделей, включающих от 3 до 62 ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови;  
Е. для оптимальной комбинированной модели, включающей эритроцитарные уровни C20:2n-6, МНЖК, C16:2n-6.

ROC curves for differentiating severe stages of liver fibrosis from initial ones in patients with fatty liver disease of alcoholic and mixed genesis: A. for the erythrocyte level of eicosadienoic acid C20:2n-6; B. for the total content of monounsaturated fatty acids in erythrocyte membranes; C. for the erythrocyte level of  $\alpha$ -linolenic acid C18:3n-3; D. for the erythrocyte level of hexadecadienoic C16:2n-6; E. for combined models including 3 to 62 FAs of erythrocyte membranes and blood serum; F. for the optimal combined model including erythrocyte levels of C20:2n-6, MUFA, C16:2n-6.

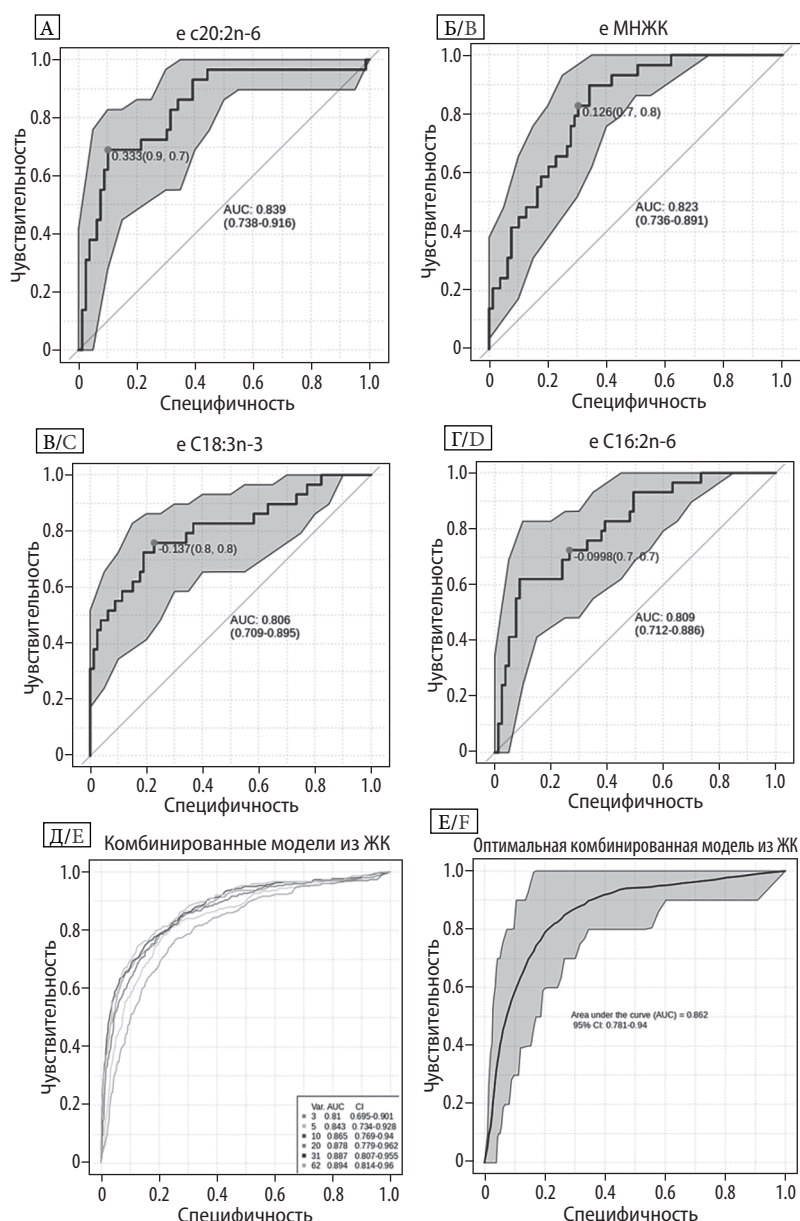


Figure 4.

и гепатоцеллюлярным апоптозом с прогрессированием фиброза печени [26]. В эксперименте на мышцах Sui Y.H. et al. показали, что пальмитиновая кислота напрямую активировала инфламасому NLRP3 и повышала сенсibilизацию к активации инфламасомы, вызванной липополисахаридами, в гепатоцитах, увеличивала экспрессию фосфорилированного белка NF- $\kappa$ B p65, что было ассоциировано с прогрессированием ЖБП [27].

Однако, повышенные уровни пентадекановой (C15:0), маргариновой ЖК (C17:0) оказали протективный эффект в отношении некровоспалительной активности и фиброза печени в мышечной модели стеатогепатита [28], что согласуется с данными нашей работы по ассоциации повышенного уровня пентадекановой кислоты сыворотки крови с начальными стадиями фиброза печени. Показано, что добавление C15:0 в диету снижает число цероиднагруженных макрофагов [28].

В перечне работ показано, что общее количество мононенасыщенных жирных кислот увеличивается

в печени и плазме пациентов с НАЖБП [29–32]. В некоторых случаях это увеличение было обусловлено повышенным содержанием пальмитолеиновой кислоты и олеиновой кислоты [30, 31]. Эти МНЖК образуются из насыщенных жирных кислот с участием фермента стеарил-КоА-десатуразы (SCD1). Увеличение концентрации мононенасыщенных жирных кислот может быть связано с активацией липогенеза *de novo* и повышением активности SCD1 [33]. Chiappini et al [21] продемонстрировали, что экспрессия гена SCD1 значительно увеличилась у пациентов со стеатогепатитом в соответствии с повышением уровней олеиновой и пальмитолеиновой кислот. Напротив, Guo R., Chen L. показали низкое содержание пальмитолеиновой кислоты в мембранах эритроцитов пациентов с тяжелой НАЖБП и предположили, что это связано с высоким уровнем элонгазы 5 (Elovl5), что приводит к более высокой скорости превращения C16:1;9 в вакценовую кислоту, которая ассоциирована с некровоспалительной активностью в ткани печени



и прогрессированием фиброза [34]. По данным эксперимента Yoo W. et al. сывороточные уровни вакценовой кислоты C18:1n7c прямо коррелировали со степенью фиброза печени в эксперименте на мышах [28]. López-Bautista F. et al. показал наличие ассоциаций между уровнями МНЖК в диете и степенью фиброза печени – для пальмитолеиновой ЖК ( $r^2=0,29$ ;  $p=0,01$ ), олеиновой ЖК ( $r^2=0,29$ ;  $p=0,01$ ) [25]. Считается, что мононенасыщенные жирные кислоты способствуют развитию стеатоза, но более эффективно включаются в триглицериды гепатоцитов, поэтому они менее липотоксичны, чем насыщенные жирные кислоты. Также была предложена потенциальная защитная роль мононенасыщенных жирных кислот против липотоксичности посредством содействия накоплению триглицеридов в гепатоцитах [35]. Возможно, этот эффект МНЖК реализовался в настоящем исследовании, определив протективный тренд влияния этого класса ЖК на выраженность фиброза печени.

В ряде липидомных исследований выявлено снижение длинноцепочечных ПНЖК у пациентов с прогрессированием ЖБП, что согласуется с нашими данными ассоциации повышенных уровней отношения НЖК/МНЖК с выраженным фиброзом печени. Так, снижение уровней эйкозапентаеновой, докозагексаеновой и арахидоновой кислот было отмечено в биоптатах печени и плазме пациентов с НАЖБП [20, 29, 30, 36], что авторы связали либо с дефицитом питания, либо с нарушением биосинтеза ЖК. Образование этих ПНЖК представляет собой многоступенчатый процесс, в котором задействованы несколько ферментов – элонгаз и десатураз. Показана сниженная активность десатуразы жирных кислот 1 (FADS1) и элонгазы жирных кислот 6 (ELOVL6) у пациентов со стеатогепатитом [21]. Кроме того, снижение активности FADS1 считается ключевым патогенетическим фактором прогрессирования жировой болезни печени. Еще одним интересным открытием является повышенное соотношение омега-6/омега-3, наблюдаемое в биоптатах печени пациентов со стеатогепатитом [20, 29]. ПНЖК, особенно омега-3, участвуют в нескольких биологических процессах и играют защитную роль против липотоксичности и инсулинорезистентности [37]. Восстановление содержания омега-3 в ткани печени снизило степень стеатоза, выраженность инсулинорезистентности, уровень перекисного окисления липидов и некровоспаление в мышинной модели стеатогепатита [37]. Более того, ПНЖК взаимодействуют с факторами транскрипции и модулируют экспрессию генов, участвующих в метаболизме липидов и фиброгенезе [27, 38]. Показано, что диета, обогащенная докозагексаеновой кислотой, уменьшала сенсibilизацию к активации инфламмосомы печени NLRP3, вызванной липополисахаридами, *in vivo*, снижала экспрессию фосфорилированного белка NF- $\kappa$ B p65 в гепатоцитах, предотвращая развитие фиброза [27]. По данным Lytle K.A. et al. в мышинной модели стеатогепатита докозагексаеновая кислота была более эффективна, чем эйкозагексаеновая, в предотвращении эффектов, вызванных западной диетой, на печеночные транскрипты, связанные с фиброзом, включая коллаген 1A1 (Col1A1), сигнализацию

трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF $\beta$ ) и белки, участвующие в ремоделировании внеклеточного матрикса, включая металлопротеазы, тканевые ингибиторы металлопротеаз и подтипы лизилоксидазы [38]. Cansanção K. et al. подтвердили роль добавок с докозагексаеновой кислотой в снижении степени фиброза у пациентов с НАЖБП [39].

В литературе в первую очередь указывается на дисбаланс между жирными кислотами омега-6 и омега-3 как на ключевой патогенный механизм, а не на конкретные подтипы омега-6. По данным Zhang W. et al. повышенное соотношение омега-6/омега-3 ПНЖК может создавать провоспалительную среду, способствующую прогрессированию АЖБП [40].

В настоящей работе установлено, что низкое содержание  $\alpha$ -линоленовой омега-3 полиненасыщенной жирной кислоты ассоциировано с выраженным фиброзом. Диетическое потребление является единственным источником этой незаменимой жирной кислоты, которая служит основным субстратом для синтеза омега-3 ПНЖК [41]. Можно предположить, что дефицит в диете C18:3n-3 мог привести к снижению уровня омега-3 ПНЖК, их производных – противовоспалительных эйкозаноидов, проразрывающих медиаторов с минимизацией их протективного эффекта на фиброгенез [42]. Wang M. et al. предположили, что ингибирование этанол-индуцированного липолиза жировой ткани через ось PDE3B-AMPK объясняет позитивное влияние омега-3 ПНЖК на алкогольный стеатоз печени и снижает прогрессирование фиброза на примере их экспериментальной модели [43]. Омега-3 ПНЖК могут ингибировать арахидоновый каскад конкурентно антагонизирующими ферментами (дельта 6- и дельта 5-десатуразы, циклооксигеназы и липоксигеназы), тем самым обеспечивая противовоспалительные эффекты, ингибируя синтез воспалительных медиаторов арахидоновой кислоты и тромбоксана A2 [44, 45]. Сдвиг баланса в сторону омега-6 ПНЖК при дефиците омега-3 ПНЖК обуславливает высокую активность воспаления в печени, предрасполагающего к фиброгенезу.

Повышенные уровни омега-6 полиненасыщенной ЖК – дигомо- $\gamma$ -линоленовой C20:3n-6 оказались связанными с выраженным фиброзом по результатам настоящей работы. Данная кислота является одним из звеньев образования арахидоновой кислоты из линоленовой. Было показано, что плазменные концентрации C20:3n-6 были связаны с несколькими воспалительными медиаторами, в частности, высокочувствительным С-реактивным белком и провоспалительными цитокинами. Кроме того, уровни этой ЖК прямо коррелировали с окружностью талии, индексом массы тела, уровнем триглицеридов, активностью АСТ и АЛТ, демонстрируя сильную связь как с ожирением, так и прогрессированием ЖБП у пациентов с СД 2 типа [46].

У детей с прогрессирующим стеатозом печени наблюдались повышенные уровни омега-6 ПНЖК, включая дигомо- $\gamma$ -линоленовую (C20:3n-6) и адриновую (C22:4n-6), сопровождающиеся сниженной долей омега-3 ПНЖК эйкозапентаеновой кислоты (C20:5n-3) [47].

Арахидоновая кислота, будучи производным дигомо-γ-линоленовой ЖК, является предшественником лейкотриенов, гидроксййкозатетраеновых и гидроксйкоктадекадиеновых кислот. В условиях окислительного стресса накопление этих оксипинов в печени ассоциировано с прогрессированием фиброза при ЖБП [48]. Gao B. et al. [49] выявили изменения в уровне оксипинов у пациентов с алкогольным поражением печени и связь этих изменений с клиническими параметрами, такими как проницаемость кишечника, степень стеатоза и фиброза печени.

Hegazy MA. et al. показаны различные эффекты омега-6 ПНЖК на патогенез метаболически-ассоциированной ЖБП [41]. Если арахидоновая кислота и ее производные способствуют воспалению печени и прогрессированию заболевания, то линолевая, цис-9, транс-12-изомер конъюгированной линолевой кислоты и докозапентаеновая кислота проявляют противовоспалительные свойства даже в высоких дозах. Возможно, подобные влияния имеются и у других представителей данного класса, в том числе, у гексадекадиеновой ЖК C16:2n-6, вошедшей в оптимальную диагностическую панель, уровень которой был ниже при выраженном фиброзе, чем при его начальных стадиях.

По данным настоящей работы сниженный уровень омега-6 ПНЖК – эйкозодиеновой кислоты (C20:2n-6) был ассоциирован с выраженным фиброзом.

C20:2n-6 образуется в организме человека в процессе элонгации линолевой кислоты (C18:2n-6), и, в свою очередь, может метаболизироваться в дигомо-γ-линоленовую (C20:3;8,11,14 (n-6)), арахидоновую (C20:4n-6) и скиадоновую (C20:3;5,11,14 (n-6)) жирные кислоты. Возможен и обратный процесс конверсии C20:2n-6 в линолевую кислоту [50, 51]. Концентрация эйкозодиеновой ЖК в крови в основном отражает уровень других омега-6 ПНЖК и, по всей видимости, может зависеть как от уровня эссенциальной линолевой кислоты, так и от интенсивности эндогенного синтеза арахидоновой кислоты [51, 52].

В ряде исследований показаны противоположные эффекты данной кислоты на воспалительные процессы. В экспериментальной работе Huang Y.S. et al. C20:2n-6 снижала образование NO, но увеличивала продукцию простагландина E<sub>2</sub> и ФНО-α [51, 53]. На мышинной модели Idborg H. et al. показали, что выключение гена микросомальной (мембраносвязанной) синтазы-1 простагландина E (mPGES-1), отвечающей за продукцию индуцибельного простагландина E<sub>2</sub>, приводило к подавлению воспаления

и активации противовоспалительных путей, сопровождаясь при этом повышением уровня эйкозодиеновой ЖК [51, 54]. Результаты Европейского исследования EPIC-Potsdam Prospective Cohort Study, включавшего более 12 тысяч пациентов с сахарным диабетом 2 типа, показали значимое снижение содержания эйкозодиеновой кислоты, как и ее предшественника – линолевой кислоты, у этой категории пациентов, что свидетельствует о ее противовоспалительном влиянии [51, 55]. Снижение уровня эйкозодиеновой ЖК наблюдалось при боковом амиотрофическом склерозе [51, 56]. Терапия таких аутоиммунных патологий как полимиозит и дерматомиозит приводила к повышению изначально сниженной концентрации C20:2n-6 [51, 57].

В противоположность этим данным, исследование Payab M. et al. выявило повышенный сывороточный уровень эйкозодиеновой кислоты у пациентов с ожирением и гиперлипидемией [51, 58]. Высокие концентрации эйкозодиеновой, арахидоновой и некоторых других ПНЖК в плазме крови, а также повышенная активность Δ6-десатуразы (D6D, ген FADS2), в свою очередь, могут быть связаны с полиморфизмом rs174537 (и другими) в кластере генов FADS, определяющим также высокие уровни липопротеинов низкой плотности и общего холестерина [51, 59, 60].

Тем не менее, результаты экспериментальных и клинических исследований позволяют предположить, что эйкозодиеновая кислота обладает, скорее, противо-, а не провоспалительным эффектом, а преимущественная конверсия линолевой кислоты в эйкозодиеновую (вместо арахидоновой) может потенциально уменьшить возможные неблагоприятные эффекты омега-6 ПНЖК [51, 61, 62].

В исследовании Sitkin S. et al. предложен новый метаболомный индекс – отношение уровня арахидоновой кислоты к уровню эйкозодиеновой кислоты (C20:4n-6/C20:2n-6), который, по мнению авторов, отражает баланс между провоспалительными и противовоспалительными компонентами пула омега-6 ПНЖК и может рассматриваться как потенциальный биомаркер хронического воспаления [51].

Можно предположить, что в нашем исследовании эйкозодиеновая кислота реализует противовоспалительный, антифибротический эффект у пациентов с ЖБП различного генеза, причем ее значимость для различения начального и выраженного фиброза обусловила включение данной жирной кислоты в оптимальную дифференциально-диагностическую модель.

## Заключение

Таким образом, выявлены жирные кислоты мембран эритроцитов и сыворотки крови, уровни которых позволили различить пациентов с начальным и выраженным фиброзом с жировой болезнью печени алкогольного и смешанного (алкогольный + метаболический) генеза.

Выраженная степень фиброза (F2–4) оказалась ассоциированной с повышенными уровнями суммарного содержания насыщенных (p=0,00018),

стеариновой C18:0 (p=0,001), пальмитиновой C16:0 (p=0,004), лауриновой C12:0 (p=0,07), отношения НЖК/ННЖК (p=0,0018) в мембранах эритроцитов и сывороточными уровнями НЖК/ННЖК (p=0,008), дигомо-γ-линоленовой C20:3n-6 (p=0,04). Напротив, при выраженном фиброзе печени по сравнению с начальными стадиями установлены более низкие уровни сывороточной пентадекадиеновой кислоты C15:0 (p=0,04), эритроцитарной

$\alpha$ -линоленовой C18:3n-3 ( $p=5,45e-10$ ), суммарного содержания МНЖК ( $p=6,83e-08$  для мембран эритроцитов и  $p=5,55e-06$  для сыворотки крови), отдельных МНЖК (для эритроцитарной элаидиновой t-C18:1 –  $p=2,42e-06$ , для ее сывороточного уровня –  $p=0,0002$ ; для сывороточной 7-пальмитолеиновой 7-C16:1 –  $p=0,0003$ ; для сывороточной пальмитолеиновой 9-C16:1 –  $p=0,013$ ; для ее уровня в мембранах эритроцитов –  $p=0,042$ ); более низкие концентрации двух омега-6 ПНЖК как в мембранах эритроцитов (для гексадекадиеновой C16:2n-6 –  $p=2,69e-07$ , для эйкозадиеновой C20:2n-6 –  $p=8,52e-07$ ), так и в сыворотке крови (для C16:2n-6 –  $p=1,33e-05$ , для C20:2n-6 –  $p=0,002$ ).

#### Финансирование

Работа выполнена по Государственному заданию в рамках бюджетной темы «Изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их ранней диагностике и профилактике», 2024–2028 гг. (FWNR-2024–0004).

#### Funding

The work was carried out under the State assignment within the framework of the budget theme “Study of molecular-genetic and molecular-biological mechanisms of development of common therapeutic diseases in Siberia to improve approaches to their early diagnosis and prevention”, 2024–2028 (FWNR-2024–0004).

#### Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность Паруликовой М.В., врачу-гастроэнтерологу за содействие в обследовании пациентов, Соколовой А.С., к.х.н., научному сотруднику лаборатории физиологически активных веществ ФГБУН «Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН» за помощь в подготовке образцов для проведения исследования жирных кислот эритроцитов; Шашкову М.В., к.х.н., научному сотруднику аналитической лаборатории ФГБУН «Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН» за исследование содержания жирных кислот; к.х.н. Шестову А.А. доценту Медицинского факультета Перельмана, Университета Пенсильвании, Филадельфия, Пенсильвания (США) за консультирование и помощь в статистической обработке данных.

#### Acknowledgments

The authors express their deep gratitude to M.V. Parulikova, gastroenterologist, for assistance in examining patients; A.S. Sokolova, Ph.D., research associate, laboratory of physiologically active substances, N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS, for assistance in preparing samples for the study of erythrocyte fatty acids; M.V. Shashkov, Ph.D., research associate, analytical laboratory, G.K. Boreskov Institute of Biology and Microbiology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences for the study of fatty acid content; PhD in Chemistry A.A. Shestov, Associate Professor of the Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania (USA) for consulting and assistance in statistical data processing.

## Литература | References

1. Mitra S., De A., Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2020 Apr 5;5:16. doi: 10.21037/tgh.2019.09.08.
2. Idalsoaga F., Kulkarni A.V., Mousa O.Y. et al. Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Alcohol-Related Liver Disease: Two Intertwined Entities. *Front Med (Lausanne).* 2020 Aug 20;7:448. doi: 10.3389/fmed.2020.00448.
3. Lazebnik L.B., Turkina S.V. NAFLD Associated Comorbidity. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2021;(10):5–13 (In Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-194–10–5–13.  
Лазебник Л.Б., Туркина С.В. НАЖБП-ассоциированная коморбидность. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2021;(10):5–13. doi: 10.31146/1682–8658-ecg-194–10–5–13.
4. Unalp-Arida A., Ruhl CE. Liver fibrosis scores predict liver disease mortality in the United States population. *Hepatology.* 2017 Jul;66(1):84–95. doi: 10.1002/hep.29113.
5. Ng C.H., Lim W.H., Hui Lim G.E. et al. Mortality Outcomes by Fibrosis Stage in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2023 Apr;21(4):931–939.e5. doi: 10.1016/j.cgh.2022.04.014.
6. Berumen J., Baglieri J., Kisseleva T. Mekeel K. Liver fibrosis: Pathophysiology and clinical implications. *WIREs Mech Dis.* 2021 Jan;13(1):e1499. doi: 10.1002/wsbm.1499.
7. Koelmel J.P., Tan W.Y., Li Y. et al. Lipidomics and Redox Lipidomics Indicate Early Stage Alcohol-Induced Liver Damage. *Hepatol Commun.* 2022 Mar;6(3):513–525. doi: 10.1002/hep4.1825.
8. Béland-Bonenfant S., Rouland A., Petit J.M., Vergès B. Concise review of lipidomics in nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab.* 2023 May;49(3):101432. doi: 10.1016/j.diabet.2023.101432.
9. Chen S., Yang C, Q. [Significance of lipidomics in liver fibrosis]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2021 May 20;29(5):484–487. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn501113–20200316–00118.

10. Jia H., Liu J., Fang T. et al. The role of altered lipid composition and distribution in liver fibrosis revealed by multimodal nonlinear optical microscopy. *Sci Adv.* 2023 Jan 13;9(2): eabq2937. doi: 10.1126/sciadv.abq2937.
11. Gruevska A., Leslie J., Perpinan E. et al. Spatial lipidomics reveals sphingolipid metabolism as anti-fibrotic target in the liver. *Metabolism: Clinical and Experimental.* 2025. 168:156237 doi: 10.1016/j.metabol.2025.156237
12. Ten Hove M., Pater L., Storm G. et al. The hepatic lipidome: From basic science to clinical translation. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;159:180–197. doi: 10.1016/j.addr.2020.06.027.
13. Ivashkin V.T., Maevskaya M.V., Zharkova M.S. et al. Clinical Practice Guidelines of the Russian Scientific Liver Society, Russian Gastroenterological Association, Russian Association of Endocrinologists, Russian Association of Gerontologists and Geriatricians and National Society for Preventive Cardiology on Diagnosis and Treatment of Non-Alcoholic Liver Disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2022;32(4):104–140. (in Russ.) doi: 10.22416/1382–4376–2022–32–4–104–140.  
Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Жаркова М.С., и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российской ассоциации эндокринологов, Российской ассоциации геронтологов и гериатров и Национального общества профилактической кардиологии по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2022;32(4):104–140. doi: 10.22416/1382–4376–2022–32–4–104–140.
14. [Alcoholic liver disease (ALD) in adults]. Clinical guidelines. 2021–2022–2023 (10.01.2022) / Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation (in Russ.) Available at: [http://disuria.ru/\\_ld/12/1219\\_kr21K70MZ.pdf](http://disuria.ru/_ld/12/1219_kr21K70MZ.pdf) (date accessed: 12.05.2024).  
Алкогольная болезнь печени (АБП) у взрослых. Клинические рекомендации. 2021–2022–2023 (10.01.2022) / Утв. Минздравом РФ URL: [http://disuria.ru/\\_ld/12/1219\\_kr21K70MZ.pdf](http://disuria.ru/_ld/12/1219_kr21K70MZ.pdf) (дата обращения: 12.05.2024). – Текст: электронный.
15. Rinella M.E., Lazarus J.V., Ratzliff V. et al. NAFLD Nomenclature consensus group. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology.* 2023;78(6):1966–1986. doi:10.1097/HEP.0000000000000520
16. Recommendations of the VNOK experts on the diagnosis and treatment of metabolic syndrome (second revision). *Cardiovascular therapy and prevention.* 2009; 6(2) (in Russ.)  
Рекомендации экспертов ВНОК по диагностике и лечению метаболического синдрома (второй пересмотр). Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2009; 6(2).
17. Ferraioli G., Monteiro L.B.S. Ultrasound-based techniques for the diagnosis of liver steatosis. *World J. Gastroenterol.* 2019;25:6053–6062. doi: 10.3748/wjg.v25.i40.6053.
18. Kruchinina M.V., Kruchinin V.N., Prudnikova Ya.I. et al. Study of the level of fatty acids in erythrocyte membranes and serum of patients with colorectal cancer in Novosibirsk. *Advances in Molecular Oncology.* 2018;5(2):50–61 (in Russ.). doi: 10.17650/2313–805X-2018–5–2–50–61.  
Кручинина М.В., Кручинин В.Н., Прудникова Я.И., и др. Исследование уровня жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком г. Новосибирска. Успехи молекулярной онкологии. 2018; 5 (2): 50–61. doi: 10.17650/2313–805X-2018–5–2–50–61.
19. Breiman L. Random Forests. *Machine Learning.* 2001; 45: 5–32. doi: 10.1023/A:1010933404324.
20. Puri P., Baillie R.A., Wiest M.M. et al. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2007; 46: 1081–1090. doi: 10.1002/hep.21763.
21. Chiappini F., Coilly A., Kadar H. et al. Metabolism dysregulation induces a specific lipid signature of nonalcoholic steatohepatitis in patients. *Sci Rep.* 2017; 7: 46658. doi: 10.1038/srep46658.
22. Walle P., Takkunen M., Männistö V. et al. Fatty acid metabolism is altered in non-alcoholic steatohepatitis independent of obesity. *Metabolism* 2016; 65: 655–666. doi: 10.1016/j.metabol.2016.01.011.
23. Zheng J.S., Xu A., Huang T. et al. Low docosa-hexaenoic acid content in plasma phospholipids is associated with increased non-alcoholic fatty liver disease in China. *Lipids.* 2012; 47: 549–556. doi: 10.1007/s11745–012–3671–4.
24. Musso G., Gambino R., De Micheli F. et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2003; 37: 909–916. doi: 10.1053/jhep.2003.50132.
25. López-Bautista F., Barbero-Becerra V.J., Ríos M.Y. et al. Dietary consumption and serum pattern of bioactive fatty acids in NAFLD patients. *Ann Hepatol.* 2020 Sep-Oct;19(5):482–488. doi: 10.1016/j.aohp.2020.06.008.
26. Li Z.Z., Berk M., McIntyre T.M., Feldstein A.E. Hepatic lipid partitioning and liver damage in nonalcoholic fatty liver disease: role of stearoyl-CoA desaturase. *J Biol Chem.* 2009; 284: 5637–5644. doi: 10.1074/jbc.M807616200.
27. Sui Y.H., Luo W.J., Xu Q.Y., Hua J. Dietary saturated fatty acid and polyunsaturated fatty acid oppositely affect hepatic NOD-like receptor protein 3 inflammasome through regulating nuclear factor-kappa B activation. *World J Gastroenterol.* 2016 Feb 28;22(8):2533–44. doi: 10.3748/wjg.v22.i8.2533.
28. Yoo W., Gjuka D., Stevenson H.L. et al. Fatty acids in non-alcoholic steatohepatitis: Focus on pentadecanoic acid. *PLoS ONE.* 2017; 12(12): e0189965(5). doi: 10.1371/journal.pone.0189965.
29. Araya J., Rodrigo R., Videla L.A. et al. Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n – 6/n – 3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci (Lond).* 2004; 106: 635–643. doi: 10.1042/CS20030326.
30. Allard J.P., Aghdassi E., Mohammed S. et al. Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a cross-sectional study. *J Hepatol.* 2008; 48: 300–307. doi: 10.1016/j.jhep.2007.09.009.
31. Puri P., Wiest M.M., Cheung O. et al. The plasma lipidomic signature of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2009; 50: 1827–1838. doi: 10.1002/hep.23229.
32. Peng K.Y., Watt M.J., Rensen S. et al. Mitochondrial dysfunction-related lipid changes occur in nonalcoholic fatty liver disease progression. *J Lipid Res.* 2018; 59: 1977–1986. doi: 10.1194/jlr.M085613.
33. Chong M.F., Hodson L., Bickerton A.S. et al. Parallel activation of de novo lipogenesis and stearoyl-CoA desaturase activity after 3 d of high-carbohydrate feeding. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87: 817–823. doi: 10.1093/ajcn/87.4.817.
34. Guo R., Chen L., Zhu J. et al. Monounsaturated fatty acid-enriched olive oil exacerbates chronic alcohol-induced

- hepatic steatosis and liver injury in C57BL/6J mice. *Food Funct.* 2023, 14, 1573–1583. doi: 10.1039/D2FO03323B.
35. Listenberger L.L., Han X., Lewis S.E. et al. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100: 3077–3082. doi: 10.1073/pnas.0630588100.
  36. Ma D.W., Arendt B.M., Hillyer L.M. et al. Plasma phospholipids and fatty acid composition differ between liver biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease and healthy subjects. *Nutr Diabetes.* 2016; 6: e220. doi: 10.1038/nutd.2016.27.
  37. López-Vicario C., González-Pérez A., Rius B. et al. Molecular interplay between  $\Delta 5/\Delta 6$  desaturases and long-chain fatty acids in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut.* 2014; 63: 344–355. doi:10.1136/gutjnl-2012-303179.
  38. Lytle K.A., Depner C.M., Wong C.P., Jump D.B. Docosahexaenoic acid attenuates Western diet-induced hepatic fibrosis in *Ldlr*<sup>-/-</sup> mice by targeting the TGF $\beta$ -Smad3 pathway. *J Lipid Res.* 2015; 56: 1936–1946. doi:10.1194/jlr.M061275.
  39. Cansanção K., Citelli M., Carvalho Leite N. et al. Impact of Long-Term Supplementation with Fish Oil in Individuals with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Double Blind Randomized Placebo Controlled Clinical Trial. *Nutrients.* 2020 Nov 2;12(11):3372. doi: 10.3390/nu12113372.
  40. Zhang W., Zhong W., Sun Q. et al. Hepatic overproduction of 13-HODE due to ALOX15 upregulation contributes to alcohol-induced liver injury in mice. *Sci Rep.* 2017 Aug 21;7(1):8976. doi: 10.1038/s41598-017-02759-0.
  41. Hegazy M.A., Ahmed S.M., Sultan S.M. et al. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Friends or foes. *World J Hepatol.* 2025; 17(3): 102286. doi: 10.4254/wjh.v17.i3.102286.
  42. Loomba R., Quehenberger O., Armando A., Dennis E.A. Polyunsaturated fatty acid metabolites as novel lipidomic biomarkers for noninvasive diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis. *J Lipid Res.* 2015; 56: 185–192. doi: 10.1194/jlr.P055640.
  42. Wang, M.; Zhang, X.; Ma, L.J.; Feng, R.B.; Yan, C.; Su, H.; He, C.; Kang, J.X.; Liu, B.; Wan, J.B. Omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorate ethanol-induced adipose hyperlipolysis: A mechanism for hepatoprotective effect against alcoholic liver disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017, 1863, 3190–3201.
  43. Wang M., Ma L.J., Yang Y. et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids for the management of alcoholic liver disease: A critical review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;59(sup1): S116–S129. doi: 10.1080/10408398.2018.1544542.
  44. Chen J., Lu R.S., Diaz-Canestro C. et al. Distinct changes in serum metabolites and lipid species in the onset and progression of NAFLD in Obese Chinese. *Comput Struct Biotechnol J.* 2024 Jan 20;23:791–800. doi: 10.1016/j.csbj.2024.01.007.
  45. Yamashita K., Higa M., Kunishita R. et al. Dihomo-gamma-linolenic acid levels and obesity in patients with type 2 diabetes. *Diabetol Int.* 2015;6:206–211. doi:10.1007/s13340-014-0187-6.
  46. Hua M.C., Su H.M., Yao T.C. et al. Alternation of plasma fatty acids composition and desaturase activities in children with liver steatosis. *PLoS One.* 2017 Jul 31;12(7): e0182277. doi: 10.1371/journal.pone.0182277.
  47. Banaszcak M., Maciejewska D., Drozd A. et al. Lipooxygenase Derivatives as Serum Biomarkers of a Successful Dietary Intervention in Patients with NonAlcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina (Kaunas).* 2020 Feb 3;56(2):58. doi: 10.3390/medicina56020058.
  48. Gao B., Ahmad M.F., Nagy L.E., Tsukamoto H. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* (2019) 70:249–59. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.023
  49. Tanaka T, Uozumi S, Morito K, Osumi T, Tokumura A. Metabolic conversion of C20 polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids to essential fatty acids. *Lipids.* 2014 May;49(5):423–9. doi: 10.1007/s11745-014-3896-5.
  50. Sitkin S., Pokrotnieks J. Alterations in Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism and Reduced Serum Eicosadienoic Acid Level in Ulcerative Colitis: Is There a Place for Metabolomic Fatty Acid Biomarkers in IBD? *Dig Dis Sci.* 2018 Sep;63(9):2480–2481. doi: 10.1007/s10620-018-5182-5.
  51. Liou Y.A., Innis S.M. Dietary linoleic acid has no effect on arachidonic acid, but increases n-6 eicosadienoic acid, and lowers dihomo-gamma-linolenic and eicosapentaenoic acid in plasma of adult men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009 Apr;80(4):201–6. doi:10.1016/j.plefa.2009.02.003.
  52. Huang Y.S., Huang W.C., Li C.W., Chuang L.T. Eicosadienoic acid differentially modulates production of pro-inflammatory modulators in murine macrophages. *Mol Cell Biochem.* 2011 Dec;358(1–2):85–94. doi: 10.1007/s11010-011-0924-0.
  53. Idborg H., Olsson P., Leclerc P. et al. Effects of mPGES-1 deletion on eicosanoid and fatty acid profiles in mice. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2013 Dec;107:18–25. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2013.07.004.
  54. Prada M., Eichelmann F., Wittenbecher C. et al. Plasma Lipidomic n-6 Polyunsaturated Fatty Acids and Type 2 Diabetes Risk in the EPIC-Potsdam Prospective Cohort Study. *Diabetes Care.* 2023 Apr 1;46(4):836–844. doi: 10.2337/dc22-1435.
  55. Duan J., Song Y., Zhang X., Wang C. Effect of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids-Derived Bioactive Lipids on Metabolic Disorders. *Front Physiol.* 2021 May 25;12:646491. doi: 10.3389/fphys.2021.646491.
  56. Zhao Q., Hu Q., Meng S. et al. Metabolic profiling of patients with different idiopathic inflammatory myopathy subtypes reveals potential biomarkers in plasma. *Clin Exp Med.* 2023 Nov;23(7):3417–3429. doi: 10.1007/s10238-023-01073-6.
  57. Payab M., Tayanloo-Beik A., Falahzadeh K. et al. Metabolomics prospect of obesity and metabolic syndrome; a systematic review. *J Diabetes Metab Disord.* 2021 Nov 26;21(1):889–917. doi: 10.1007/s40200-021-00917-w.
  58. Coltell O., Sorlí J.V., Asensio E.M. et al. Association Study for Serum Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids: Exploratory Analysis of the Sex-Specific Effects and Dietary Modulation in Mediterranean Subjects with Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2020 Jan 24;12(2):310. doi: 10.3390/nu12020310.
  59. Huang P.C., Cheng H., Su Y.T. et al. Interaction among dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid intake, fatty acid desaturase 2 genetic variants, and low-density lipoprotein cholesterol levels in type 2 diabetes patients. *J Diabetes Investig.* 2023 Feb;14(2):297–308. doi: 10.1111/jdi.13944.
  60. Chaaba R., Bouaziz A., Ben Amor A. et al. Fatty Acid Profile and Genetic Variants of Proteins Involved in Fatty Acid Metabolism Could Be Considered as Disease Predictor. *Diagnostics (Basel).* 2023 Mar 4;13(5):979. doi: 10.3390/diagnostics13050979.
  61. Coniglio S., Shumskaya M., Vassiliou E. Unsaturated Fatty Acids and Their Immunomodulatory Properties. *Biology (Basel).* 2023 Feb 9;12(2):279. doi: 10.3390/biology12020279.