

АПОПТОЗ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ РАННЕЙ ФОРМЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Дуданова О. П.¹, Шиповская А. А.¹, Курбатова И. В.²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования Петрозаводский государственный университет (185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск, Россия)

² Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук" (ИБ КарНЦ РАН) (185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск, Россия)

APOPTOSIS OF HEPATOCYTES IN THE EARLY FORM OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Dudanova O. P.¹, Shipovskaya A. A.¹, Kurbatova I. V.²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Petrozavodsk State University" (PetrSU) (185910, the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russia)

² Institute of Biology of Karelian Research Centre Russian Academy of Sciences (IB KarRC RAS) (185910, the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russia)

Для цитирования: Дуданова О. П., Шиповская А. А., Курбатова И. В. Апоптоз гепатоцитов при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;157(9): 81–85. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-157-9-81-85.

For citation: Dudanova O. P., Shipovskaya A. A., Kurbatova I. V. Apoptosis of hepatocytes in the early form of non-alcoholic fatty liver disease. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;157(9): 81–85. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-157-9-81-85.

Дуданова Ольга Петровна — профессор, д.м.н., зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней и гигиены

Шиповская А.А. — аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гигиены

Курбатова И.В. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории генетики

Dudanova Olga Petrovna — Professor, Doctor of Medical Science, Head. Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Hygiene

Shipovskaya A. A. — post-graduate student of the department of propaedeutics of internal diseases and hygiene

Kurbatova I. V. — Ph.D., scientific research ass. employer of the Laboratory for Genetics

Дуданова Ольга Петровна

Dudanova Olga P.

odudanova@gmail.com

Резюме

Цель — оценка выраженности апоптоза гепатоцитов при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) — стеатозе печени (СП).

Материалы и методы. Обследовано 83 пациента СП: мужчин 42 (50,6%), женщин — 41 (49,4%) в возрасте 52,4±12,3 лет. Диагноз СП устанавливался на основании клинико-лабораторных данных, результатов ультразвукового исследования печени и гистологического исследования биоптатов печени. Определялись методом ИФА уровни фрагментов цитокератина-18 (ЦК-18) (маркера апоптоза) (тест-система «TPS ELISA», «Biotech», Швеция), туморнекротического фактора альфа (ТНФ-α) (тест-система «Human TNFα Platinum ELISA», «eBioscience», Австрия), инсулина («Insulin TEST System», США) в плазме крови. Рассчитывался HOMA-IR, индекс фиброза NAFLD fibrosis score (NAFLD FS). Гистологическая активность и фиброз оценивались по методу Brunt. Статистический анализ выполнялся с помощью программы «StatGraphics 2.1» с использованием U-теста Манна-Уитни, рангового корреляционного анализа Спирмена.

Результаты. Обнаружено повышенное содержание ЦК-18 у больных стеатозом печени по сравнению с таковым у здоровых лиц — 184,4±64,6 Ед/л против 90,1±37,2 Ед/л (p=0,030). Выявлялось достоверное увеличение относительно контроля лабораторных маркеров внутрипеченочного холестаза, HOMA-IR, ТНФ-α, холестерина, липопротеинов низкой плотности, триглицеридов, глюкозы и NAFLD FS. Уровень ЦК-18 коррелировал только с содержанием холестерина — r=+0,70 (p=0,004).

Закключение. При ранней форме НАЖБП — стеатозе печени — отмечался повышенный уровень ЦК-18 — маркера апоптоза гепатоцитов, что свидетельствовало о риске прогрессирования данного заболевания. Тесная связь между содержанием ЦК-18 и уровнем холестерина в крови подтверждала значимость последнего в развитии апоптоза гепатоцитов. Терапия, направленная на купирование апоптоза гепатоцитов и нормализацию уровня холестерина, целесообразна при самой ранней форме НАЖБП — стеатозе печени.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз печени, апоптоз, цитокератин-18, туморнекротический фактор-альфа

Summary

The aim of the research was to assess the severity of hepatocyte apoptosis in early form of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) — liver steatosis (LS).

Materials and methods. Total of 83 patients of LS were examined: men 42 (50.6%), women — 41 (49.4%) at the age of 52.4 ± 12.3 years. The diagnosis of the LS was established on the basis of clinical, laboratory data, the results of ultrasound liver examination and histological examination of liver biopsy specimens. Blood plasma levels of cytokeratin-18 (CK-18) (apoptosis marker) («TPS ELISA test system», Biotech, Sweden), tumor necrotic factor alpha (TNF- α) («Human TNF α Platinum ELISA test system», «EBioscience», Austria), insulin («Insulin TEST system», USA) were examined by ELISA. The HOMA index, the NAFLD fibrosis score (NAFLD FS) were calculated. The histological activity and fibrosis were evaluated using the Brunt method. Statistics were analyzed using the "StatGraphics 2.1", using the Mann-Whitney U test, Spearman's rank correlation analysis.

Results. High content of CK-18 was found in patients with hepatic steatosis compared with that in healthy individuals — 184.4 ± 64.6 U/l versus 90.1 ± 37.2 U/l ($p=0.030$). A significant increase of laboratory markers of intrahepatic cholestasis, HOMA-IR, TNF- α , cholesterol, low-density lipoproteins, triglycerides, glucose and NAFLD FS were revealed in patients with liver steatosis relative to the control. The level of CK-18 correlated only with cholesterol in LS — $r=+0.70$ ($p=0.004$).

Conclusion. An increased CK-18 level of hepatocyte apoptosis marker was detected in an early form of NAFLD — liver steatosis, indicating the risk of progression of this disease. The close relationship between the content of CK-18 and the level of cholesterol in the blood confirmed the role of the latter in the development of hepatocyte apoptosis. Therapy is aimed at arresting hepatocyte apoptosis and normalization of cholesterol levels, appropriate for the earliest form of NAFLD — liver steatosis.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, hepatic steatosis, apoptosis, cytokeratin-18, tumor necrotic factor-alpha

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) занимает значительное место в структуре хронических заболеваний печени, конкурируя по распространенности с хроническими вирусными гепатитами и алкогольной жировой болезнью печени. По данным различных авторов, частота ее обнаружения среди населения различных стран составляет 20–40% [1, 2]. В России, согласно исследованию DIREG-2, она выявляется у 37,3% лиц, обратившихся за помощью в амбулаторно-поликлинические учреждения здравоохранения [3]. Прогнозируется дальнейший рост НАЖБП в связи с увеличением среди мирового населения лиц с ожирением и сахарным диабетом 2 типа. До сих пор не разработаны эффективные способы лечения НАЖБП в связи с многогранными до конца непонятыми механизмами ее прогрессирования.

Практически все исследователи отмечают длительное скрытое бессимптомное или малосимптомное клиническое течение НАЖБП, которое субъективно никак не проявляется и манифестирует лишь в виде минимального цитолиза и/или усиления эхогенности печени при ультразвуковом исследовании. В то же время уже на стадии стеатоза даже до появления ультразвуковых признаков нередко при гистологическом исследовании выявляют наряду с жировой дистрофией печеночных клеток выраженный фиброз, который является предвестником цирроза печени. Это свидетельствует о том, что у части пациентов прогрессирование НАЖБП вплоть до формирования ЦП происходит без печеночно-клеточного воспаления. В данном случае большая роль принадлежит апоптозу печеночных клеток [4].

Информативным неинвазивным сывороточным маркером апоптоза гепатоцитов при НАЖБП признан цитокератин-18 [5–8]. Данный белок образуется в результате разрушения цитоскелета клеток при нарезании промежуточных филаментов эффекторными каспазами, реализующими процесс апоптоза. ЦК-18 обнаруживается в крови еще до появления морфологических признаков клеточного апоптоза. Многие авторы выявляют увеличение данного протеина при стеатогепатите (СГ) и находят корреляцию его уровня с выраженностью морфологических изменений в печени и с экспрессией данного протеина в печени, предлагая использовать определение ЦК-18 в качестве альтернативы биопсии печени [5–8].

В то же время информация об уровне апоптоза печеночных клеток при самой ранней форме НАЖБП — при стеатозе — противоречива. Одни авторы находят достоверную разницу в уровне ЦК-18 при СП в отличие от стеатогепатита [5], другие говорят об умеренной точности ЦК-18 для распознавания СГ и необходимости новых более достоверных биомаркеров при НАЖБП [7], другие находят большую чувствительность фактора роста фибробластов-21, а не ЦК-18 для верификации простого стеатоза [8]. Вследствие противоречивости полученных данных в отношении ЦК-18, применение его в рутинной практике при НАЖБП пока не рекомендовано, и существует необходимость дальнейших исследований и накопления больше информации по данной проблеме.

Целью исследования явилась оценка выраженности апоптоза печеночных клеток при ранней форме НАЖБП — стеатозе печени.

Материалы и методы

Обследовано 83 пациента стеатозом печени (СП): мужчин 42 (50,6%), женщин — 41 (49,4%) в возрасте $52,4 \pm 12,3$ лет. Диагноз СП устанавливался согласно клиническим рекомендациям РГА и НОГР [1, 2]. Оценивались традиционные лабораторные данные: анализ крови клинический, аланинаминотрансфераза (АЛАТ), аспартатаминотрансфераза (АСАТ), билирубин, альбумин, протромбин, щелочная фосфатаза (ЩФ), гамма-глутамилтрансептидаза (ГГТП), показатели липидного и углеводного обменов — холестерин, липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), триглицериды (ТГ), глюкоза. Методом иммуноферментного анализа определялся уровень маркера апоптоза печеночных клеток — фрагментов цитокератина-18 (ЦК-18) (тест-система «TPS ELISA», «Biotech», Швеция), уровень туморнекротического фактора альфа (ТНФ- α) (тест-система «Human TNF α Platinum ELISA», «eBioscience», Австрия), инсулина («Insulin TEST System», США). Рассчитывался индекс НОМА по формуле — $\text{инсулин} \times \text{глюкоза} \text{ натошак} / 22,5$. Рассчитывался индекс фиброза NAFLD fibrosis score (NAFLD FS) по формуле: $-1,675 + 0,037 \times \text{возраст (годы)} + 0,094 \times \text{ИМТ (кг/м}^2\text{)} + 1,13 \times \text{натошак}$ — коварная гипергликемия/диабет (да = 1, нет = 0) + $0,99 \times \text{АСАТ/АЛАТ} - 0,013 \times \text{тромбоциты (} \times 10^9/\text{л)} - 0,66 \times$

альбумин (г/дл). Уровень ниже -1,455 свидетельствовал об отсутствии значительного фиброза, выше 0,676 — о наличии значительного фиброза (F3-F4) [9]. Чрескожная биопсия была выполнена 8 (9,6%) пациентам с оценкой гистологической активности и фиброза по методу Brunt [10]. Критериями исключения были: алкогольная болезнь печени; аутоиммунные поражения печени; хронические вирусные гепатиты; лекарственные гепатиты; генетические и метаболические поражения печени (болезнь Вильсона-Коновалова, гемохроматоз, дефицит альфа-1-антитрипсина). Пациенты с СД2 типа, принимающие инсулиносенситайзеры, также были исключены из исследования. Контрольную группу составили 35 здоровых лиц: 18 (51,4%) мужчин, 17 (48,6%) женщин в возрасте $37,5 \pm 10,4$ года. От всех пациентов получено информированное письменное согласие на обследование. Работа одобрена этическим комитетом Петрозаводского государственного университета.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программы «StatGraphics 2.1». Для анализа различий между переменными использовался U-тест Манна-Уитни. Коэффициенты корреляции рассчитывались с использованием рангового корреляционного анализа Спирмена. Статистическую значимость определяли при $p < 0,05$.

Результаты

Среди больных СП отмечалось равнозначное гендерное распределение, но возраст женщин был достоверно больше — $57,1 \pm 13,1$ года, чем мужчин — $47,7 \pm 9,8$ года ($p < 0,01$) (табл. 1). У большинства больных (у 65–78,3%) выявлялось ожирение или избыточный вес, индекс массы тела составил

$33,5 \pm 8,5 \text{ кг/м}^2$, окружность талии — $109,0 \pm 21,2 \text{ см}$. Гипертоническая болезнь I-II стадий выявлялась у большинства пациентов — у 68 (81,9%).

Субъективные симптомы поражения печени были слабовыраженными, только 16 (19,3%) больных предъявляли жалобы на периодически

Показатели	Стеатоз печени, n=83	Здоровые лица, n=35	P
Возраст, годы	$52,4 \pm 12,3$	$37,5 \pm 10,4$	0,0001
АЛАТ, Ед/л	$17,9 \pm 6,3$	$17,6 \pm 6,1$	$>0,05$
АСАТ, Ед/л	$21,3 \pm 6,3$	$18,7 \pm 4,7$	$>0,05$
Билирубин, мкмоль/л	$15,8 \pm 6,8$	$13,6 \pm 5,2$	$>0,05$
ЩФ, Ед/л	$208,3 \pm 60,1$	$110,0 \pm 46,7$	0,0003
ГГТП, Ед/л	$45,5 \pm 15,6$	$13,5 \pm 10,6$	0,01
Общий белок, г/л	$70,8 \pm 4,8$	$70,1 \pm 4,2$	$>0,05$
Альбумин, г/л	$39,6 \pm 3,2$	$42,8 \pm 3,2$	$>0,05$
Холестерин, ммоль/л	$5,8 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,4$	$>0,05$
ЛПВП, ммоль/л	$1,3 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0,4$	0,012
ЛПНП, ммоль/л	$3,4 \pm 1,2$	$3,0 \pm 0,6$	0,04
ТГ, ммоль/л	$2,2 \pm 0,5$	$1,3 \pm 0,6$	0,0001
Глюкоза, ммоль/л	$6,0 \pm 1,7$	$4,8 \pm 0,7$	0,0011
СОЭ, мм/час	$12,8 \pm 5,2$	$9,2 \pm 4,1$	0,007
ТНФ- α , пг/мл	$5,7 \pm 1,2$	$4,5 \pm 1,1$	0,031
ЦК-18, Ед/л	$184,4 \pm 64,6$	$90,1 \pm 37,2$	0,03
Инсулин, МкЕд/мл	$18,0 \pm 8,5$	$4,6 \pm 2,0$	0,001
НОМА-IR	$5,7 \pm 2,5$	$1,1 \pm 0,36$	0,00007
NAFLD FS	$-0,608 \pm 1,373$	$-3,296 \pm 0,640$	0,03
ИГА, баллы	$2,2 \pm 0,5$	-	-
Фиброз, баллы	$1,2 \pm 0,4$	-	-

Таблица 1.
Клинико-лабораторные показатели у больных стеатозом печени и у здоровых лиц контрольной группы (М $\pm$ m)

возникающее чувство тяжести в правом подреберье и немотивированную слабость. Печеночные ладони выявлялись у 19 (22,9%) больных, других печеночных знаков не было. При УЗИ у всех обследованных обнаруживались признаки стеатоза печени в виде «яркой» печени, экзогенность которой превышала экзогенность селезенки. У большинства пациентов (у 78 — 94,0%) отмечалась гиперхолестеринемия и/или дислипидемия в виде увеличения уровня ЛПНП и ТГ. Натощаковая гипергликемия наблюдалась у 15 (18,1%) пациентов, средний уровень глюкозы составил $6,0 \pm 1,7$ ммоль/л (табл. 1). НОМА-IR был увеличен почти у половины пациентов — у 36 (43,4%), в среднем составил $5,7 \pm 2,5$.

Ни у кого из обследованных больных не были повышены традиционные маркеры гепатоцитарного повреждения АЛАТ — $17,9 \pm 6,3$ Ед/л и АСАТ — $21,3 \pm 6,3$ Ед/л (табл. 1). Увеличение концентрации билирубина в пределах $25,0$ – $42,5$ мкмоль/л выявлялось только у 12 (14,5%) больных, в целом уровень его не превышал норму — $15,8 \pm 6,8$ мкмоль/л (табл. 1). Показатели белковосинтетической функции печени (альбумин, протромбин) были нормальными. В то же время содержание ЦК-18 у большинства больных СП — у 62 (74,7%) было повышенным и средний уровень его достоверно превышал

таковой в контрольной группе — $184,4 \pm 64,6$ Ед/л против $90,1 \pm 37,2$ Ед/л ($p < 0,05$). Несколько реже определялся увеличенный уровень ТНФ- α — у 49 (59,0%) пациентов, в целом составляя $5,7 \pm 1,2$ пг/мл, достоверно превышая таковой у здоровых лиц — $4,5 \pm 1,1$ пг/мл ($p < 0,05$). У части больных отмечались лабораторные маркеры внутрипеченочного холестаза: у 49 (59,0%) был увеличен уровень ГГТП и у 13 (15,7%) — ЩФ; средний уровень ГГТП составил $45,5 \pm 15,6$ Ед/л и ЩФ — $208,3 \pm 60,1$ Ед/л.

При гистологическом исследовании ткани печени выявлялась преимущественно крупнокапельная, реже — мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, степень стеатоза составила $2,2 \pm 0,5$ балла. Баллонной дистрофии и воспалительной инфильтрации не отмечалось. Определялся перипортальный, перисинусоидальный фиброз в 3 и 2 зонах ацинусов, в среднем он равнялся $1,2 \pm 0,4$ балла. NAFLD FS составил $(-0,608 \pm 1,373)$, что достоверно превышало уровень такового у здоровых лиц контрольной группы $(-3,296 \pm 0,640)$ ($p < 0,05$).

Уровень ЦК-18 у больных СП тесно коррелировал с уровнем холестерина — $r = +0,70$ ($p = 0,004$); значимых связей с показателями воспаления, фиброза, с печеночными функциональными тестами не было обнаружено.

Обсуждение

Существенную роль в прогрессировании НАЖБП имеет гибель печеночных клеток не только путем некроза, но и апоптоза. Верифицировать апоптоз традиционными лабораторными методами не представляется возможным, поэтому данная проблема печеночно-клеточного повреждения при НАЖБП недостаточно полно изучена. В зарубежной литературе имеется информация о диагностической роли при НАЖБП ЦК-18, который образуется в процессе апоптоза гепатоцитов. Большинство авторов подтверждают значение ЦК-18 для дифференциальной диагностики стеатогепатита от стеатоза печени [5–8].

Нами уровень ЦК-18 исследовался в крови больных стеатозом печени, и было обнаружено его достоверное увеличение по сравнению с уровнем ЦК-18 у здоровых лиц — $184,4 \pm 64,6$ Ед/л против $90,1 \pm 37,2$ Ед/л ($p < 0,05$) соответственно. Хотя СП относят к доброкачественно протекающей форме НАЖБП, но обнаруженный повышенный уровень ЦК-18 свидетельствует об усиленной потере печеночных клеток, что может привести к прогрессированию СП, развитию фиброза и трансформации СП в стеатогепатит и даже цирроз печени. Известно, что при апоптозе гепатоцитов происходит активация макрофагов печени (купферовских клеток) в момент фагоцитоза ими апоптотических телец [11]. Активированные макрофаги выделяют цитокины, хемокины, факторы роста, привлекающие иммунные и мезенхимальные клетки в ткань печени, ухудшающие функцию инсулиновых рецепторов, что способствует развитию воспаления, прогрессированию инсулинорезистентности. Вслед за этим происходит возбуждение звездчатых клеток, преобразование их в миофибробласты, синтезирующие белки внеклеточного матрикса и способствующие развитию фиброза печени. Если данный процесс

носит ограниченный характер, и преобладают компенсаторные реакции, нормализующие гомеостаз, то данный процесс может стабилизироваться или даже регрессировать, но у части пациентов со стеатозом печени апоптоз печеночных клеток может прогрессировать и вызывать развитие воспаления и фиброза. У наблюдаемых больных степень фиброза по гистологическим данным была слабовыраженной, составляя $1,2 \pm 0,4$ баллов и NAFLD FS был низким $(-0,608 \pm 1,373)$, и оба показателя не коррелировали с уровнем ЦК-18. Об отсутствии корреляции между ЦК-18 и фиброзом пишут и другие исследователи [12]. Не отмечалось и коррелятивной связи между ЦК-18 и уровнем ТНФ- α . Данные факты подтверждали отсутствие у больных СП явного параллелизма между апоптозом гепатоцитов и воспалительно-фибротическим процессом в печени, но риск прогрессирования в стеатогепатит у них все же существовал, учитывая достоверно повышенный уровень ТНФ- α и ЦК-18 по сравнению со здоровыми донорами.

ЦК-18 у обследованных пациентов тесно коррелировал только с уровнем холестерина $r = +0,70$ ($r = 0,004$). Факт токсического влияния холестерина на гепатоциты при НАЖБП подтверждается многими исследователями [13]. Холестерин, накапливаясь в клетках, вызывает митохондриальную дисфункцию, увеличение синтеза активных форм кислорода, развитие эндоплазматического стресса и апоптоза, способствуя прогрессированию заболевания. Кроме того, у пациентов выявлялись признаки внутрипеченочного холестаза в виде увеличения ферментов ГГТП и ЩФ. При холестазе в гепатоцитах задерживаются гидрофобные желчные кислоты, которые оказывают токсическое действие на клетки, вызывают развитие

эндоплазматического стресса, экспрессию проапоптотических транскрипционных факторов, активацию внутреннего и внешнего путей апоптоза [14].

Таким образом, при самой ранней форме НАЖБП — стеатозе печени — отмечается достоверное увеличение в крови маркера апоптоза печеночных клеток — ЦК-18, что свидетельствует о потере гепатоцитов и потенциальном риске прогрессирования стеатоза печени.

Тесная связь между содержанием ЦК-18 и уровнем холестерина в крови подтверждает значимость последнего в развитии апоптоза гепатоцитов при стеатозе печени.

Терапия, направленная на купирование апоптоза гепатоцитов и нормализацию уровня холестерина,

целесообразна при самой ранней форме НАЖБП — стеатозе печени.

У авторов нет конфликта интересов.

Работа выполнена при финансовой поддержке «Программы развития опорного университета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» на период 2017-2021 годов — проект «Высокие биомедицинские технологии здоровья и сбережения населения в арктической и субарктической зонах», а также в рамках государственного задания № 0221-2014-0034 и проекта «Разработка технологии скрининговой диагностики неалкогольной жировой болезни печени у лиц с избыточным весом и метаболическим синдромом» № 9173ГУ/2015 от 15.12.2015 г. программы «У.М.Н.И.К.».

Литература | Reference

1. Ивашкин В. Т., Маевская М. В., Павлов Ч. С., Тихонов И. Н., Широкова Е. Н., Буевров А. О. и соавт. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации // РЖГГК. — 2016. — № 2. — С. 24–42.
Ivashkin V.T., Mayevskaya M.V., Pavlov Ch.S., Tikhonov I.N., et al. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the Russian gastroenterological association. *Ross z gastroenterol gepatol koloproktol* 2016; 26(2):24–42.
2. Лазебник Л. Б., Радченко В. Г., Голованова Е. В., Звенигородская Л. А., Конев Ю. В. и соавт. НАЖБП: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации утверждены XV съездом НОГР в 2015 году // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2015. — Т. 119, № 7. — С. 85–97.
Lazebnik L.B., Radchenko V.G., Golovanova E.V., Zvenigorodskaya L.A., Konev Yu. V. et al. Nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic, symptoms, treatment guidelines were approved by the xv gastroenterological scientific society of russia in 2015. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2015; 119(7):85–97.
3. Ивашкин В. Т., Драпкина О. М., Маев И. В., Трухманов А. С., Блинов Д. В., Пальгова Л. К. и соавт. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов амбулаторно-поликлинической практики в Российской Федерации: результаты исследования DIREG 2 // РЖГГК. — 2016. — № 6. — С. 31–41.
Ivashkin V.T., Drapkina O.M., Mayev I.V., Trukhmanov A.S., et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in out-patients of the Russian Federation: DIREG 2 study results. *Ross z gastroenterol gepatol koloproktol* 2016; 25(6):31–41.
4. Guicciardi M. E., Gores G. J. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression. // *Semin. Liver Dis.* — 2010. — Vol. 30 (4). — P. 402–410.
5. Aida Y., Abe H., Tomita Y., Nagano T., Seki N., Sugita T., Itagaki M. et al. Serum cytokeratin 18 fragment level as a noninvasive biomarker for non-alcoholic fatty liver disease. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* — 2014. — Vol. 7. — P. 4191–4198.
6. Arab J. P., Hernández-Rocha C., Morales C., Vargas J. I., Solís N., Pizarro M. et al. Serum cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive marker of nonalcoholic steatohepatitis in the chilean population. // *Gastroenterol. Hepatol.* — 2017. — Vol. 40 (6). — P. 388–394.
7. Shen J., Chan H. L.-Y., Wong G. L.-H., Choi P. C.-L., Chan L. W.-H., Chim A. M.-L. et al. Non-invasive diagnosis of nonalcoholic steatohepatitis by combined serum biomarkers. // *J. Hepatol.* — 2012. — Vol. 56. — P. 1363–1370.
8. Wu G., Li H., Fang Q., Zhang J., Zhang M., Zhang L. et al. Complementary Role of Fibroblast Growth Factor 21 and Cytokeratin 18 in Monitoring the Different Stages of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. // *Sci. Rep.* — 2017. — Vol. 7 (1). — P. 5095.
9. Angulo P., Hui J. M., Marchesini G., Bugianesi E., George J., Farrell G. C. et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. // *Hepatology*. — 2007. — Vol. 45 (4). — P. 846–854.
10. Brunt E. M., Janney C. G., Di Bisceglie A. M., Neuschwander-Tetri B. A., Bacon B. R. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. // *Am. J. Gastroenterol.* — 1999. — Vol. 94 (9). — P. 2467–2474.
11. Canbay A., Feldstein A. E., Higuchi H., Werneburg N., Grambihler A., Bronk S. F. et al. Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression // *Hepatology*. — 2003. — Vol. 38 (5). — P. 1188–1198.
12. Cusi K., Chang Z., Harrison S., Lomonaco R., Bril F., Orsak B. et al. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. // *J. Hepatol.* — 2014. — Vol. 60. — P. 167–174.
13. Ioannou G. N. The Role of Cholesterol in the Pathogenesis of NASH. // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2016. — Vol. 27 (2). — P. 84–95.
14. Wang K. Molecular mechanisms of hepatic apoptosis. // *Cell Death Dis.* — 2014. — Vol. 5 (1). — P. e996.