

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ У ЛИЦ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Кролевец Т.С., Ливзан М.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский Государственный Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Омск, Россия)

CLINICAL AND LABORATORY MARKERS FOR PREDICTING LIVER FIBROSIS IN INDIVIDUALS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Krolevets T.S., Livzan M.A.

Federal State Educational Institution of Higher Education "Omsk State Medical University", the Ministry of Health of the Russian Federation (Omsk, Russia)

Для цитирования: Кролевец Т.С., Ливзан М.А. Клинико-лабораторные маркеры прогнозирования фиброза печени у лиц с неалкогольной жировой болезнью печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;155(7): 43–51.

For citation: Krolevets T.S., Livzan M.A. Clinical and laboratory markers for predicting liver fibrosis in individuals with non-alcoholic fatty liver disease. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;155(7): 43–51.

Кролевец Татьяна Сергеевна — ассистент кафедры факультетской терапии, профессиональных болезней

Ливзан Мария Анатольевна — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой факультетской терапии, профессиональных болезней; проректор по НИР

Krolevets Tatyana S. — Assistant of department of therapy and occupational (professional) diseases

Livzan Maria A. — PhD, department of therapy and occupational (professional) diseases

Кролевец

Татьяна Сергеевна

Krolevets Tatyana S.
mts-8-90@mail.ru

Резюме

Цель: повысить эффективность прогнозирования и диагностики фиброза у больных неалкогольной жировой болезнью печени.

Материалы и методы: Нами проведено открытое исследование типа «случай-контроль» с включением 149 пациентов с НАЖБП и различной стадией фиброза, определяемой по эластомерии и гистологическому исследованию биоптата печени (группа 1 — без признаков фиброза печени (n=40), группа 2 — фиброз 1 (n=43), группа 3–2 (n=34) и группа 4–3 стадии (n=32)). Проводились общеклинические, лабораторные методы обследования. Дополнительно исследовались неинвазивные маркеры фиброза в сыворотке крови: концентрации инсулина, лептина, адипонектина, матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и её ингибиторов — тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 и 2 (TIMP-1, TIMP-2). В качестве потенциального маркера прогрессирования фиброза печени при НАЖБП исследовался полиморфизм PNPLA3 148M/I (rs738409) методом ПЦР.

Результаты: Нами были выделены клинические и лабораторные признаки, продемонстрировавшие информативность по формированию прогрессирующих стадий фиброза. Установлено, что для пациентов с НАЖБП характерна гиперлептинемия и гиперинсулинемия. Оценка различных вариантов лептинорезистентности позволяет дифференцировать пациентов группы высокого риска по прогрессированию фиброза. Характер распределения жировой ткани (абдоминальное ожирение) — высокоинформативный критерий фиброза печени высоких стадий. Полиморфизм гена PNPLA3 148M/I обладает прогностической значимостью в формировании и прогрессировании фиброза печени у больных НАЖБП. Прогностически значимыми, вошедшими в математическую модель, клинико-лабораторными маркерами формирования и прогрессирования фиброза печени у пациентов с НАЖБП являются: уровень лептина, его растворимого рецептора в сыворотке крови, биохимическая активность заболевания (НАСГ), объем талии.

Заключение: Комплексный количественный анализ клинических, инструментальных и лабораторных показателей позволяет прогнозировать формирование и прогрессирование фиброза печени у лиц с неалкогольной жировой болезнью.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, фиброз, прогноз

Summary

Objective: To increase the effectiveness of prediction and diagnosis of fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease.

Materials and Methods: We conducted an open-type case-control study involving 149 patients with NAFLD and a different stage of fibrosis determined with elastometry and histological examination of the liver biopsy specimen (group 1 — without signs of liver fibrosis (n = 40), group 2 — fibrosis 1 (n = 43), group 3–2 (n = 34) and group 4–3 stages (n = 32)). General clinical and laboratory methods of examination were conducted. In addition, noninvasive markers of fibrosis in the blood serum were studied: the concentration of insulin, leptin, adiponectin, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors — tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and 2 (TIMP-1, TIMP-2). The polymorphism PNPLA3 148M / I (rs738409) was studied by the PCR method as a potential marker of the progression of liver fibrosis in NAFLD.

Results: We identified clinical and laboratory signs demonstrating informativeness in the formation of progressive stages of fibrosis. It was studied that patients with NAFLD have hyperleptinemia and hyperinsulinemia. Evaluation of various types of leptinresistance allows to differentiate patients of high risk group for the progression of fibrosis. The nature of fat tissue distribution (abdominal obesity) is a highly informative criteria of high-stage liver fibrosis. Polymorphism of the PNPLA3 gene 148M/I has prognostic significance in the formation and progression of liver fibrosis in patients with NAFLD. The level of leptin, its soluble receptor in the serum, the biochemical activity of the disease (NASH), the waist are clinical and laboratory markers for the formation and progression of liver fibrosis in patients with NAFLD. These markers were included in the mathematical model.

Conclusion: Complex quantitative analysis of clinical, instrumental and laboratory indicators allows predicting the formation and progression of liver fibrosis in individuals with non-alcoholic fatty disease.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, fibrosis, prognosis

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) становится наиболее распространенным хроническим заболеванием печени во всем мире, что отчасти связано с неуклонным ростом факторов риска заболевания, ожирения, избыточной массы тела, сахарного диабета (СД) 2 типа [1, 2, 3]. Актуальность изучения данной проблемы обусловлена риском прогрессирования заболевания (неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), цирроз, гепатоцеллюлярная карцинома), а также смертностью от кардиоваскулярных событий, заболеваний почек, потребностью в трансплантации печени [4, 5]. Помимо

клинико-биохимической активности заболевания (НАСГ), необходимо уделять пристальное внимание формированию и прогрессированию фиброза печени, как компонента естественного течения НАЖБП, так как фиброз признается ведущим фактором, определяющим прогноз пациентов и риск смерти [6]. Необходима разработка стратегий диагностики данного осложнения и выявления групп риска по его прогрессированию среди пациентов с НАЖБП.

Цель исследования: повысить эффективность прогнозирования и диагностики фиброза у больных неалкогольной жировой болезнью печени.

Материалы и методы

Нами было проведено открытое исследование типа «случай-контроль» с формированием исследовательской группы из 149 пациентов с НАЖБП. В исследование включались пациенты в возрасте от 18 до 65 лет с диагностированной НАЖБП, подписавшие информированное согласие.

Критериями исключения были вирусное поражение печени, алкогольная болезнь, наличие или подозрение на наркотическую зависимость пациента, аутоиммунные заболевания печени, болезни накопления, лекарственное поражение печени, цирроз печени, сопутствующие заболевания в стадии декомпенсации, беременность, период лактации, онкологические заболевания, проведенные в анамнезе операции на органах желудочно-кишечного тракта (еюноилеальное шунтирование, резекция желудка и др.).

Пациенты с НАЖБП подвергались общеклиническому, лабораторному и инструментальному блоку обследований.

Общеклинический включал сбор жалоб с указанием их интенсивности (0 – отсутствует, 1 – слабо выражено, 2 – умеренно выражено, 3 – выражено в значительной степени), сбор анамнеза заболевания; оценку факторов риска НАЖБП: отягощенная наследственность и/или наличие у пациентов хронических неинфекционных заболеваний, рассматриваемых в рамках метаболического синдрома; наличие заболеваний гепатобилиарного тракта и панкреатодуоденальной зоны.

Оценивался объективный статус пациента, антропометрические данные: рост, вес с расчетом индекса массы тела (ИМТ), объема талии (ОТ), объема бедер (ОБ) и их соотношения (ОТ/ОБ),

применялись стандартные методики пальпации и перкуссии.

Лабораторные методы исследования включали ряд стандартных методик: исследование показателей общего и биохимического анализов крови, показателей гемостаза. Определялся уровень матричных металлопротеиназ (ММР-9) и их тканевых ингибиторов (TIMP-1 и 2), лептина, его растворимого рецептора, адипонектина в сыворотке крови путем проведения твердофазного иммуноферментного анализа на планшетном фотометре и инсулина хемилюминесцентным иммуноанализом на микрочастицах на анализаторе. Выборочно выполнялась оценка полиморфизма PNPLA3 148M/I (rs738409) методом ПЦР. Лабораторный блок исследований проводился на базе ЦНИЛ и АЦЛД ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России (заведующий ЦНИЛ, к.м.н., доцент Новиков Д. Г.).

Инструментальные методы диагностики включали проведение ультразвукового исследования органов брюшной полости, эластометрии. В группах высокого риска и для дифференциального диагноза проводилась пункционная тонкоигольная биопсия печени по стандартной методике под ультразвуковым контролем с последующим гистологическим исследованием биоптата (шкала Metavir).

Статистическая обработка результатов исследования и графический анализ данных проводились

на персональном компьютере при помощи программ Microsoft Excel, STATISTICA 6.1 (русифицированная версия) и на основании рекомендаций ведущих авторов в области статистической обработки данных [7]. На всех этапах статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при значениях $p \leq 0,05$. В виду того, что распределение показателей в группах было отличным от нормального, данные представлены в виде медианы (P50) с указанием межквартильного размаха (P25-P75).

Сравнение двух и более несвязанных друг с другом групп проводили при помощи непараметрических критериев Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis H test) и Mann-Withney (Mann-Withney U test) для количественных данных и двухстороннего критерия Фишера (Fisher exact p) и критерия сопряженности χ^2 Пирсона для качественных данных. Взаимосвязи между показателями оценивались при помощи корреляционного анализа Спирмена (r_s).

Для оценки информативности клинико-лабораторных показателей в отношении диагностики и прогрессирования фиброза печени была использована формула Кульбака [8]. При значении 3 и более признак расценивался как высокоинформативный. Для оценки влияния одной или нескольких независимых переменных $X_{\{1\}}, X_{\{2\}}, \dots, X_{\{p\}}$ на зависимую переменную Y и направленности данного влияния (линейное или нелинейное) использовался регрессионный анализ.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

В соответствии с критериями включения и исключения нами была сформирована группа в числе 149 пациентов с НАЖБП мужского (114 человек, 76,5%) и женского (35 человек, 23,49%) пола, среднего трудоспособного возраста 46 (41–57) лет. По результатам эластометрии пациенты с НАЖБП были разделены в группы сравнения: группа 1 – пациенты без признаков фиброза печени ($n=40$), группа 2 – имеющие фиброз 1 стадии ($n=43$), группа 3 – фиброз 2 стадии ($n=34$) и группа 4 – фиброз 3 стадии ($n=32$). Пациенты с НАЖБП и различной стадией фиброза печени были сравнимы по полу и возрасту.

Биопсия печени проводилась в группе пациентов высокого риска (с прогрессирующими стадиями

фиброза по данным эластометрии) и/или для дифференциальной диагностики, которую составили 45 пациентов с НАЖБП (30,2%). Активность варьировала от A1 (8 пациентов или 17,7%), A2 (12 или 26,6%) и A3 (25 или 55,5%). Были диагностированы следующие стадии фиброза: стадия 2–6 пациентов или 13,3%, стадия 3–31 (68,9%) и стадия 4–8 (17,8%). Пациенты с 4 стадией фиброза печени исключались из исследования, как несоответствующие критериям исключения. Результаты оценки стадии фиброза печени по данным эластометрии и гистологического исследования были сопоставимы.

Распределение пациентов по частоте предъявляемых жалоб наглядно представлено на рисунке 1. Высока доля бессимптомного течения заболевания

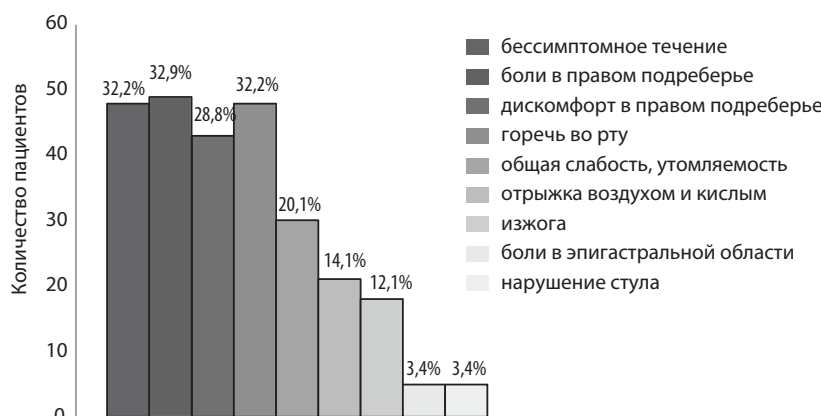


Рисунок 1.
Распределение пациентов с НАЖБП по частоте предъявляемых на момент осмотра жалоб.

Таблица 1.
Распределение больных по интенсивности жалоб (1 – слабо выражено, 2 – умеренно выражено, 3 – выражено в значительной степени).

Жалобы и их интенсивность	Боль в правом подреберье			Дискомфорт в правом подреберье			Горечь во рту			Общая слабость			Повышенная утомляемость		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Число больных, чел	16	28	5	23	17	3	23	23	2	13	13	4	12	12	5
Процент,%	32,65	57,14	10,2	53,49	39,53	6,98	47,92	47,92	4,17	43,33	43,33	13,33	41,38	41,38	17,24
Всего	49			43			48			30			29		

Рисунок 2.
Распространенность сопутствующих заболеваний в группах сравнения (1–4).

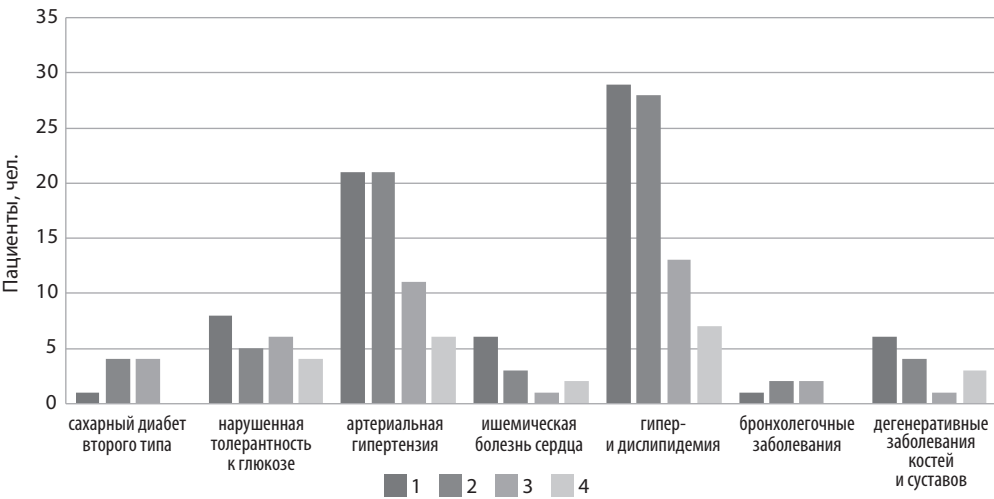


Рисунок 3.
Значения индекса массы тела (ИМТ) у пациентов с НАЖБП и различной стадией фиброза.

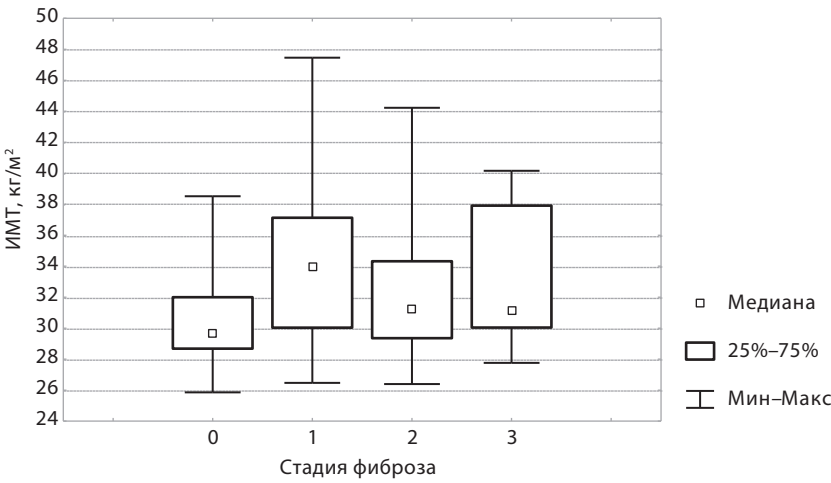
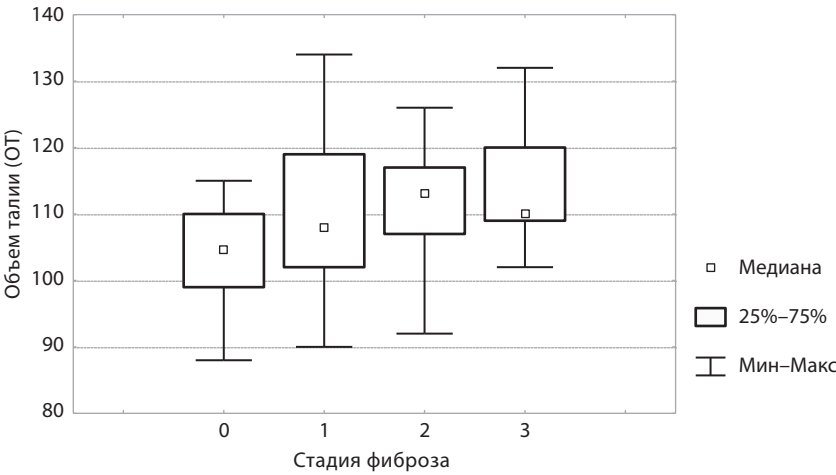


Рисунок 4.
Значения объема талии (ОТ) у пациентов с НАЖБП и различной стадией фиброза.



среди пациентов с НАЖБП, что согласуется с литературными данными [2]. Высокая распространенность жалоб на боли в правом подреберье «билиарного типа» и горечи во рту, их положительная корреляционная взаимосвязь друг с другом слабой силы ($r_s=0,178$, $p<0,05$), у пациентов с НАЖБП может быть обусловлена наличием желчнокаменной болезни (ЖКБ) и функциональных заболеваний билиарного тракта. Патогенетическими механизмами камнеобразования при НАЖБП является инсулинорезистентность, а также нарушение энтеро-гепатической циркуляции и функции гепатоцитов, что приводит к формированию неполноценных желчных мицелл и повышению литогенности желчи [9]. Интенсивность предъявляемых жалоб была различной, что наглядно представлено в таблице 1. Обращает на себя внимание, что значительную выраженность симптомов отмечали менее чем в четверти случаев от числа опрошенных, что демонстрирует скрытое течение НАЖБП. Различий по предъявляемым жалобам и их интенсивности в зависимости от стадии фиброза, а также корреляций с фиброзом печени, в группах сравнения обнаружено не было.

По результатам ретроспективной оценки амбулаторных карт давность заболевания варьировала от минимального 12 месяцев до максимального – 132 месяца или 11 лет. Более половины пациентов (63,09%) имели продолжительность болезни до 5 лет. Медиана продолжительности болезни составила 27 месяцев (2 года и 3 месяца), нижний и верхний квартили 12 и 48 месяца (1 и 4 года). По давности болезни различий в группах обнаружено не было. Длительность болезни, по данным корреляционного анализа, на стадию фиброза не оказывала значимого влияния.

Распространенность сопутствующей патологии в группах сравнения представлена на рисунке 2. Обращает внимание высокая распространенность среди пациентов с НАЖБП артериальной гипертензии, нарушений липидного и углеводного обмена, что вероятно связано с инсулинорезистентностью, единым патогенетическим механизмом формирования вышеперечисленных нарушений, так и с возникающей при НАЖБП липотоксичностью [10]. НАЖБП по данным исследований отводится роль фактора, утяжеляющего прогноз пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и СД [4], в том числе за счет участия в формировании дислипидемии и атеросклероза [11]. Неслучайно ведется полемика о включении НАЖБП в качестве критерия метаболического синдрома [12].

У 54 пациентов с НАЖБП (35,57%) по данным анамнеза была диагностирована ЖКБ, из них 8 пациентам была проведена холецистэктомия, 135 пациентов (90,6%) страдали хроническим панкреатитом (метаболический, билиарнозависимый или смешанного генеза), без внешнесекреторной недостаточности. По результатам сравнительного и корреляционного анализов, статистически значимой ассоциации сопутствующей патологии с фиброзом печени выявлено не было.

Количество пациентов, принимающих препараты для коррекции липидного или углеводного

обмена, лечения сердечно-сосудистых заболеваний, в исследовательских группах было сравнимым.

По данным осмотра у 106 пациентов с НАЖБП (71,14%) было диагностировано ожирение, избыток массы тела – у 43 пациентов (28,86%), что подтверждает данные о том, что ИМТ является независимым предиктором развития жировой инфильтрации печени [13]. Медиана ИМТ составила $31,74 \text{ кг/м}^2$, (29,41 и $36,0 \text{ кг/м}^2$). При оценке ОТ/ОБ было выяснено, у всех пациентов характер распределения жировой ткани абдоминальный (ОТ/ОБ=1,03 (1,01–1,05)). Подгруппы пациентов по результатам осмотра статистически не различались по уровню артериального давления, росту, весу. Пациенты со 2 стадией фиброза имели достоверно более высокие значения ИМТ, который при этом был положительно и статистически значимо ассоциирован с фиброзом ($r_s=(0,250)$, $p<0,023$), что наглядно представлено на рисунке 3. Имелась тенденция к нарастанию ОТ с увеличением стадии фиброза, что представлено на рисунке 4. ОТ был также статистически достоверно ассоциирован с фиброзом ($r_s=(0,345)$, $p<0,005$). С возрастанием выраженности фиброза печени чаще было диагностировано увеличение печени по данным физикального осмотра и имело также положительную статистически значимую связь с ним ($r_s=(0,245)$, $p<0,017$).

Важным этапом в диагностике НАЖБП является оценка клинико-биохимической активности заболевания (НАСГ). Изменение лабораторных показателей, характеризующих функциональное состояние печени, ассоциировано с наличием воспалительно-деструктивного процесса в печеночной ткани и фиброза [14]. Синдром цитолиза рассматривается ведущим фактором прогрессии заболевания [1]. Результаты нашего исследования согласуются с мировым научным сообществом. НАЖБП в стадии стеатоза была диагностирована у 63 пациентов (42,28%). Клинико-биохимическая активность заболевания (НАСГ) была отмечена у 86 (57,72%) пациентов, при этом цитолиз (подъем аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ)) был диагностирован чаще, а именно у 41 (47,67%), холестаза (подъем гамма-глутаминтранспептидазы (ГГТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ)) – у 22 (25,58%) и смешанные нарушения (цитолиз и холестаз) – у 23 (26,74%) больных. Наличие НАСГ увеличивало риск диагностирования фиброза печени высокой стадии у пациентов с НАЖБП ($r_s=(0,304)$, $p<0,003$). Пациенты с выраженной стадией фиброза (группы 3 и 4) имели более низкий уровень эритроцитов и тромбоцитов ($H=11,181$, $p=0,02$ и $H=11,250$, $p=0,01$ соответственно) и высокий – глюкозы и отношения АЛТ к АСТ ($H=10,522$, $p=0,03$ и $H=10,551$, $p=0,03$ соответственно). Статистически достоверно с увеличением фиброзной ткани в печени были связаны также снижение уровня тромбоцитов ($r_s=(-0,519)$, $p<0,0008$) и увеличение уровня АЛТ ($r_s=(0,357)$, $p<0,016$), АСТ ($r_s=(0,414)$, $p<0,004$), отношения АЛТ/АСТ ($r_s=(0,237)$, $p<0,022$) и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) ($r_s=(0,402)$, $p<0,025$), при этом сила связи оценена как умеренная.

Таблица 2.

Информативность клинико-лабораторных показателей для различных стадий фиброза печени (группы сравнения 1–4). Информативность по Кульбаку (J).

Примечание.

НАСГ – неалкогольный стеатогепатит, СД – сахарный диабет, САД – систолическое артериальное давление, ИМТ – индекс массы тела, ОТ – объем талии, ОТ/ОБ – отношение объема талии к объему бедер, АЛТ/АСТ – соотношение аланинаминотрансферазы к аспартатаминотрансферазе, ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, О. билирубин – общий билирубин, ПТИ – протромбиновый индекс, МНО – международное нормализованное отношение, ММР 9 – матриксная металлопротеиназа 9, TIMP 2 – тканевой ингибитор матриксных протеиназ 2, TIMP 1 – тканевой ингибитор матриксных протеиназ 1.

Рисунок 5.

Уровень тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 2 типа (TIMP-2) у пациентов с НАЖБП и различной стадией фиброза.

Признак	Информативность (J) для фиброза 1	Информативность (J) для фиброза 2	Информативность (J) для фиброза 3
Активность заболевания (НАСГ)	29,9	70,2	123,2
Боль в правом подреберье	3,4	10,3	2,6
Дискомфорт в правом подреберье	19,9	0,2	2,6
Общая слабость	0,0	71,2	10,6
Утомляемость	0,2	56,5	17,1
Нарушенная толерантность к глюкозе и СД	0,2	15,6	87,6
Увеличение печени	66,7	16,0	104,8
Уровень САД, мм рт.ст.	40,3	3,8	21,2
ИМТ, кг/м2	2,6	7,9	0,0
ОТ	1,2	18,3	42,5
ОТ/ОБ	57,0	26,0	159,0
Глюкоза, ммоль/л	0,1	22,5	54,5
АЛТ/АСТ	1,2	20,5	116,1
ХС ЛПНП, ммоль/л	14,7	73,4	73,4
Общий билирубин, мкмоль/л	11,1	41,1	56,4
ПТИ, %	39,9	20,8	0,1
МНО	39,9	34,8	13,6
ММР 9, нг/мл	5,1	2,4	59,4
TIMP 2, нг/мл	45,6	12,3	150,6
TIMP 1, нг/мл	33,7	14,7	6,6

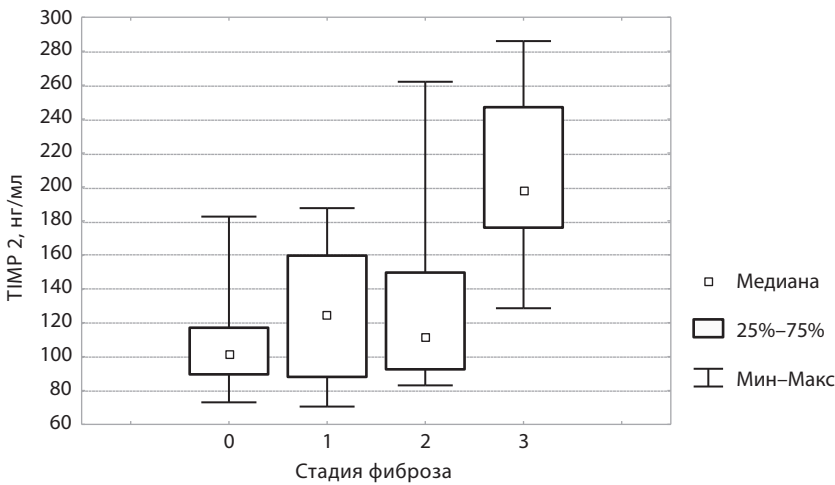
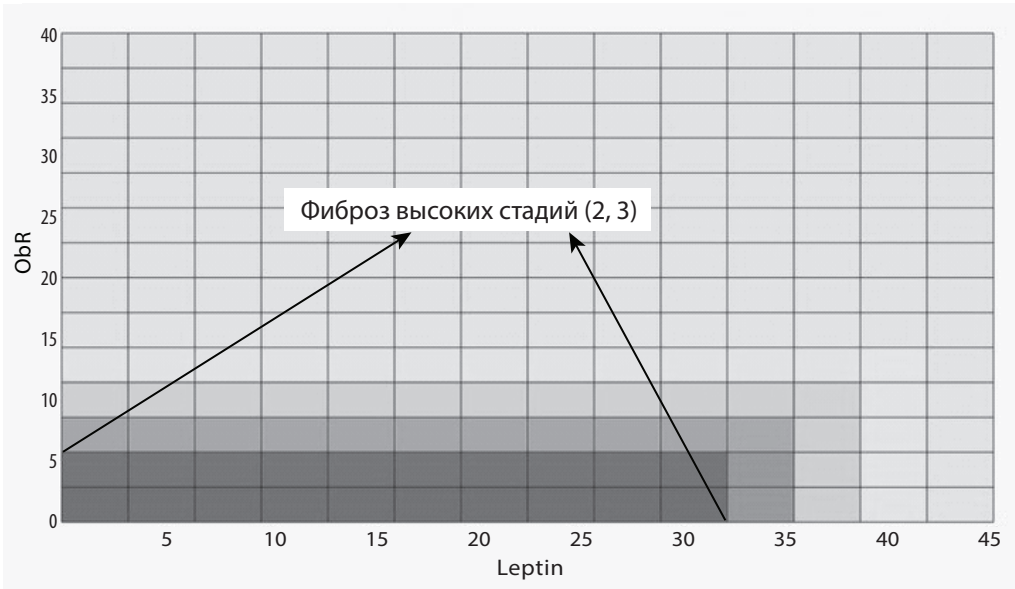


Рисунок 6.

Влияние различных видов лептинорезистентности на прогрессирование фиброза печени при НАЖБП (регрессионный анализ).

Примечание.

ObR – уровень рецепторов к лептину (пороговое значение 5 нг/мл), leptin – уровень лептина (пороговое значение 30 нг/мл).



Исследователями получены результаты как *in vitro*, так и *in vivo* о том, что ММР-9 проявляет свою активность при НАСГ, что повышение уровня зафиксировано как в сыворотке крови пациентов с НАЖБП, так и в печеночной ткани, а именно на поверхности нейтрофилов и макрофагов, что ММР-9 отрицательно коррелирует с уровнем адипонектина, протективного адипокина. Другие исследователи выявляют участие ММР-9 при НАЖБП, сходное с влиянием ожирения на прогрессирование заболевания [15]. Однако в ряде последних обзоров подчеркивается отсутствие масштабных клинических исследований в отношении изучения активности различных ММР, в том числе ММР-9, в фиброгенезе печени, в частности при НАЖБП [16].

Нами при оценке ММР-9 и TIMP-1, TIMP-2 было обнаружено увеличение TIMP-1 у пациентов с НАЖБП и составило 1345 (1105–1585) нг/мл, что превышает референтные значения более, чем в 3 раза. Уровни ММР-9 и TIMP-2 были в пределах нормы и составили 342 (247–495) нг/мл и 113 (93–154) нг/мл соответственно. Достоверно значимые различия в группах сравнения были выявлены только по уровню TIMP-2 (рисунк 5), для которого была обнаружена значимая положительная корреляционная связь умеренной силы со стадией фиброза ($r_s = (0,358)$, $p < 0,004$) [17].

По результатам сравнительной оценки и оценки корреляционных связей с выраженностью фиброза клинические и лабораторные показатели последовательно включались в анализ их информативности в отношении прогнозирования различных стадий фиброза. Наиболее информативные показатели представлены в таблице 2. Полученные результаты позволяют предполагать, что у пациентов с НАЖБП при наличии абдоминального ожирения, увеличении размеров печени, гипергликемии, подъеме ХС ЛПНП, уменьшении ММР-9, наличии биохимической активности заболевания, подъеме уровня общего билирубина и уровня TIMP-2 велика вероятность формирования прогрессирующих стадий фиброза печени (2 и 3) [18].

С учетом роли абдоминального ожирения в формировании и прогрессировании НАЖБП представлялось интересным изучение гормонального профиля: инсулина и расчета индекса инсулинорезистентности (НОМА IR), а также адипокинов, лептина и адипонектина. Известно, что лептин и адипонектин не только определяют пищевое поведение и могут оказывать влияние на формирование стеатоза печени посредством увеличения питания и, как следствие, ожирения, но и играют самостоятельную роль в фиброгенезе печени при НАЖБП. Установлено, что лептин обладает профиброгенным действием: способствует усилению выработки проколлагена I типа и трансформирующего фактора роста- β (TGF- β), усиливает фагоцитарную активность и выработку цитокинов купферовскими клетками и макрофагами, стимулирует пролиферацию эндотелиоцитов и продукцию ими активных форм кислорода, оказывает прямое воздействие на stellate клетки печени, – тогда как адипонектин, наоборот, проявляет протективное действие в отношении фиброза печени [19].

Нами было установлено, что у пациентов с НАЖБП отмечалась гиперинсулинемия (16,3 (6,24–37,55) мкЕд/мл). Оценка коэффициента НОМА-IR позволила установить, что у пациентов с НАЖБП имеется инсулинорезистентность (4,54 (1,39–10,34)). Уровень лептина также в целом по группе был высоким (16,31 (9,67–26,5) нг/мл) при низком уровне растворимых рецепторов к лептину (7,03 (4,49–10,16) нг/мл) и нормальном количестве адипонектина (18,0 (6,88–27,6) мкг/мл). Данные изменения позволяют говорить о наличии гиперлептинемии и лептинорезистентности у пациентов с НАЖБП [20]. При сравнительном анализе различий в зависимости от стадии фиброза обнаружено не было.

Регрессионный анализ позволил с высокой степенью достоверности сказать, что у пациентов с НАЖБП при увеличении уровня лептина в сыворотке крови и/или растворимых рецепторов возрастает вероятность формирования фиброза высоких стадий (2 и 3), что наглядно представлено на рисунке 6. По результатам анализа информативности лептин оказался высокоинформативным показателем по прогнозированию различных стадий фиброза печени и прогрессировании начальных его стадий (стадии 1 в 2): $J = 30,3$ для стадии 1, $J = 50,9$ для стадии 2, $J = 12,3$ для стадии 3, – тогда как остальные (инсулин, адипонектин, рецепторы к лептину) не продемонстрировали информативности вовсе.

Наиболее широко изученным генетическим полиморфизмом, признанным фактором развития и прогрессирования НАЖБП, фиброза, гепатоцеллюлярной карциномы, является PNPLA3/148M [21]. Полиморфизм гена PNPLA3/148M (patatin-like phospholipase domain-containing 3 PNPLA3 – патадин-подобный домен, содержащий 3 фосфолипазу) означает замену С на G, что ведет за собой замену изолейцина в метионин в положении 148 белка на хромосоме 22q13, кодирует белок, состоящий из 481 аминокислоты, ответственной за функцию эндоплазматического ретикулума, структуру и функцию мембран митохондрий и липидных включений в гепатоцитах и мембран адипоцитов.

Нами был исследован данный полиморфизм на группе пациентов с НАЖБП ($n = 35$) г. Омска русской и казахской национальностей, отобранных случайным образом с учетом распределения по полу. Нормальные гомозиготы C/C в исследуемой когорте пациентов встречались в 13 случаях (37,14%), гетерозиготы C/G встречались в 22 (62,86%) случаев. Мутантных гетерозигот по G аллелю в представленной группе пациентов не встречалось, в связи с чем пациенты с НАЖБП были нами разделены на 2 группы: 1 группа – гомозиготы по C аллелю ($n = 13$) и 2 группа – гетерозиготы C/G ($n = 22$). У носителей G-аллеля гена PNPLA3 по данным осмотра и пальпации увеличение печени встречалось достоверно более часто. Уровень ММР-9 достоверно более низкий у пациентов с НАЖБП и генотипом C/G. G-аллель также имел значимую, сильную отрицательную корреляционную связь с указанным признаком ($r_s = (-0,878)$, $p < 0,02$). По результатам эластометрии обращает на себя внимание, что только носители G-аллеля имели высокую стадию фиброза 3, а среди

пациентов со 2 стадией гетерозиготы встречались в 70%. При оценке различий нами было установлено, что носители G-аллеля имели достоверно более высокие стадии фиброза ($X^2 = 4,156$, $p < 0,05$).

При помощи уравнения регрессии нами была создана математическая модель по прогнозированию прогрессирования фиброза печени у пациентов

с НАЖБП. В конечную модель вошли следующие показатели: уровень рецептора к лептину, лептин с указанием коэффициента по полу, ОТ и клинико-биохимическая активность заболевания (НАСГ). Настоящая формула (1) для расчета индивидуального риска прогрессирования фиброза печени для пациентов с НАЖБП имеет вид:

$$I = \frac{ObR + НАСГ + 0,5 \times Lep + 0,5 \times ОТ}{N} \quad (1)$$

где *ObR* – уровень растворимых рецепторов к лептину (нг/мл);

Lep – уровень лептина в сыворотке крови (нг/мл);

0,5 – коэффициент по полу;

НАСГ – неалкогольный стеатогепатит, наличие которого учитывается как 2, отсутствие – 1;

ОТ – объем талии пациента;

N – количество показателей;

I – ожидаемый показатель риска: 1 – низкий, 2 – высокий.

Таким образом, пациенты с абдоминальным типом ожирения, имеющие клинико-биохимическую активность заболевания и различные варианты лептинорезистентности, будут относиться к группе высокого риска по формированию прогрессирующих стадий фиброза печени при НАЖБП.

На группе пациентов с НАЖБП, проходивших генетическое исследование ($n=35$), нами была оценена воспроизводимость разработанной математической модели. С вероятностью 80% нами разработанная математическая модель предсказывала формирование прогрессирующих стадий фиброза печени.

Выводы

По результатам исследования мы можем говорить о значимых клинических и лабораторных признаках по прогрессированию фиброза печени у пациентов с НАЖБП, к которым следует отнести проявления билиарной дисфункции, увеличение печени, подъем систолического артериального давления, нарушения углеводного обмена, биохимическую активность заболевания (НАСГ), повышенные уровни глюкозы натощак, ХС ЛПНП, ПТИ, МНО, общего билирубина, АЛТ, АСТ, а также изменение соотношения неинвазивных маркеров фиброза, MMP-9, TIMP-1 и TIMP-2 в сторону увеличения последних. Высокоинформативным в отношении прогрессирования фиброза печени является оценка характера распределения жировой

ткани в сравнении с интегральным подсчетом массы тела. Лептинорезистентность в сравнении с инсулинорезистентностью является маркером, позволяющим выделить группу высокого риска прогрессирования фиброзных изменений при НАЖБП. Полиморфизм гена PNPLA3148M/I продемонстрировал прогностическую значимость в формировании и прогрессировании фиброза печени у больных НАЖБП. Для оценки индивидуального риска формирования и прогрессирования фиброза печени разработана неинвазивная математическая модель, основанная на определении уровня лептина, его растворимого рецептора в сыворотке крови, биохимической активности заболевания, объема талии.

Литература | Reference

1. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. – June 2012, <http://www.worldgastroenterology.org/NAFLD-NASH.html>.4.
2. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов амбулаторно-поликлинической практики в Российской Федерации: результаты исследования DIREG 2 / В. Т. Ивашкин [и соав.] // РЖГГК. – 2015. – № 6. – С. 31–41.
V. T. Ivashkin, O. M. Drapkina, I. V. Mayev, A. S. Trukhmanov, D. V. Blinov, L. K. Palgova, V. V. Tsukanov, T. I. Ushakova. 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
3. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени: методические рекомендации для врачей / под ред. академика РАН, профессора
- В. Т. Ивашкина; Российское общество по изучению печени. – Москва, 2015. – 29 с.
- Ivashkin V. T. Diagnostika i lecheniye nealkogol'noy zhirovoy bolezni pecheni: metodicheskiye rekomendatsii dlya vrachey* [Diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: guidelines for doctors]. Moscow, Russian Society for the Study of the Liver Publ., 2015. 29 p.
4. Bi-directional analysis between fatty liver and cardiovascular disease risk factors / J. Ma [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2017. – Vol. 66, № 2. – P. 390–397.
5. Increasing prevalence of nonalcoholic steatohepatitis as an indication for liver transplantation / R. C. Quillin [et al.] // *Surgery*. – 2014. – № 156. – P. 1049–1056.
6. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD / H. Hagström [et al.] // *Journal of hepatology*. – 2017. – Vol. 67, № 6. – P. 1265–1273.

7. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ Ю. А. Данилова / С. Гланц. – Москва: Практика, 1998. – 459 с.
Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika: perevod s angl YU. A. Danilova, S. Glants [Medical and biological statistics: translated from English by Yu. A. Danilov, S. Glantz]. Moscow, Practic Publ. 1998. 459 p.
8. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания / Е. В. Гублер. – Москва: Медицина, 1978. – 296 с.
Gubler E. V. Vychislitel'nyye metody analiza i raspoznavaniya [Computational methods of analysis and recognition]. Moscow, The medicine Publ., 1978. 296 p.
9. Portincasa, P. From lipid secretion to cholesterol crystallization in bile. Relevance in cholesterol gallstone disease / P. Portincasa // Ann. hepatol. – 2002. – Vol. 1, № 3. – P. 121–128.
10. Ивашкин, В. Т., Маевская, М. В. Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская // РЖГГК. – 2010. – № 1. – С. 4–13.
V. T. Ivashkin, M. V. Mayevskaya Lipotoxicity and metabolic disorders at obesity. RJGHC. – 2010. Vol.20, no.1, pp. 4–13.
11. Toledo G.S.F. Influence of Hepatic Steatosis (Fatty Liver) on Severity and Composition of Dyslipidemia in Type 2 Diabetes / G.S.F. Toledo, D. A. Sniderman, E. D. Kelley // Diabetes Care. – 2006. – № 29. – P. 1845–1850.
12. Неалкогольная жировая болезнь печени: клиника, диагностика и лечение / С. Н. Мехтиев, В. Б. Гриневич, Ю. А. Кравчук, А. В. Бращенко // Лечащий врач. – 2008. – № 2. – С. 29–32.
S. N. Mehtiyev, V. B. Grinevich, Yu. A. Kravchuk, A. V. Brashchenkova Nealkogol'naya zhirovaya bolezni' pecheni: klinika, diagnostika i lecheniye [Non-alcoholic fatty liver disease: clinical presentation, diagnosis and treatment]. Lechashchiy vrach – Attending physician. 2008, no. 2, pp. 29–32.
13. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study / L. A. Adams [et al] // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 129, № 1. – P. 113–121.
14. Gastaldelli, A. Fatty Liver Is Associated with Insulin Resistance, Risk of Coronary Heart Disease, and Early Atherosclerosis in a Large European Population / A. Gastaldelli, M. Kozakova, K. Hojlund // Hepatology. – 2009. – Vol. 49. – P. 1537–1544.
15. Study on the interaction between matrix metalloproteinases gene polymorphism and central obesity in nonalcoholic fatty liver disease / P. Wu [et al.] // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. – 2015. – Vol. 36, № 12. – P. 415–418.
16. Role of MMP-2 and MMP-9 and their natural inhibitors in liver fibrosis, chronic pancreatitis and non-specific inflammatory bowel diseases / J. Kurzepa [et al.] // Hepatobiliary Pancreat Dis Int. – 2014. – Vol. 13, № 6. – P. 570–579.
17. Кролевец, Т. С. Уровень матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов как неинвазивный маркер функционального состояния печени при неалкогольной жировой болезни / Т. С. Кролевец, М. А. Ливзан, И. В. Лаптева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – Т. 131, № 7. – С. 25–31.
Livzan M. A., Lapteva I. V., Krolevets T. S. Assessment of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors for non-invasive diagnosis of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Experimental and Clinical Gastroenterology Journal. 2016;131(7):25–31
18. Информативность неинвазивных маркеров фиброза печени при неалкогольной жировой болезни / Т. С. Кролевец, М. А. Ливзан, В. А. Ахмедов, О. В. Гаус // Терапевтический архив. – 2016. – № 12. – С. 78–84.
T. S. Krolevets, M. A. Livzan, V. A. Akhmedov, O. V. Gaus Informativeness of non-invasive markers of liver fibrosis in non-alcoholic fatty disease. Terapevticheskiy arkhiv – Therapeutic archive. 1016, no. 12, pp. 78–84.
19. Saxena, Neeraj K. Anania Adipocytokines and hepatic fibrosis / Neeraj K. Saxena, Frank A. Anania // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2015. – Vol. 26, № 3. – P. 153–161.
20. Лептинорезистентность у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением и избыточной массой тела / Т. С. Кролевец, М. А. Ливзан, И. В. Лаптева, Н. А. Черкащенко // Медицинский совет. – 2015. – № 13. – С. 58–62.
M. A. Livzan, I. V. Lapteva, T. S. Krolevets, N. A. Cherkaschenko Leptin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease associated with obesity and overweight. Meditsinskiy Sovet – Medical Council. 2015, no. 13, pp. 58–62. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2015-13-58-63>
21. Kayleigh, L. W. Systematic Review of Genetic Association Studies Involving Histologically Confirmed Nonalcoholic Fatty Liver Disease / L. W. Kayleigh, M. H. Miller, J. F. Dillon // BMJ Open Gastro. – 2015. – Vol. 2, № 2. – P. 1–24.