ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ЭНДОКРИНОЛОГИИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МИШИНА ЕКАТЕРИНА ЕВГЕНЬЕВНА

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ИНСУЛИНУ У ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ И НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

3.1.19. – Эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
А.Ю. Майоров

МОСКВА
2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……..5

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……..13

1.1 Определение и эпидемиология неалкогольной жировой болезни печени……..13

1.2 Патогенетические особенности неалкогольной жировой болезни печени……..18

1.3 Диагностика неалкогольной жировой болезни печени……..23

1.3.1. Классификация неалкогольной жировой болезни печени…….24

1.3.2. Неинвазивные методы диагностики стеатоза …….24

1.3.3. Диагностика воспаления (НАСГ) …….26

1.3.4. Неинвазивная диагностика фиброза печени…….26

1.3.5. Инвазивная диагностика НАЖБП……28

1.3.6. Печень – эндокринный орган. Секреторные факторы печени…..32

1.3.7. Роль фарнезоидного Х рецептора в патогенезе НАЖБП……48

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ……53

2.1. Материалы исследования……...53

2.1.1. Дизайн исследования……..55

2.2. Методы исследования……59

2.2.1. Клиническая часть……...59

2.2.1.1. Определение антропометрических показателей……59

2.2.1.2. Определение лабораторных показателей……...60

2.2.1.3. Определение инсулинорезистентности……64

2.2.1.4. Определение специфических показателей……..67

2.2.1.5. Определение композиционного состава тела …….68

2.2.1.6. Ультразвуковая диагностика…….68

2.2.1.7. Оценка наличия и стадии неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП)……..69

2.2.2. Молекулярно-биологическая часть……74

2.3. Этическая экспертиза……..77

2.4. Статистический анализ……77

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ……78

3.1. Клиническая характеристика исследуемых пациентов……78

3.1.1. Анализ антропометрических параметров исследуемых……78

3.1.2. Особенности биохимических показателей……79

3.2. Результаты проведенных исследований……84

3.2.1. Анализ углеводного обмена и инсулинорезистентности……84

3.2.2. Анализ композиционного состава тела……..90

3.2.3. Анализ данных гистологического исследования биоптатов печени…….....91

3.2.4. Анализ данных ультразвукового исследования и эластографии сдвиговой волны……...92

3.3. Изучение взаимосвязей различных параметров……....93

3.3.1. Оценка влияния массы тела на стадию НАЖБП ……..93

3.3.2. Оценка влияния наличия нарушения углеводного обмена на стадию НАЖБП…….…94

3.3.3. Изучение взаимосвязей между антропометрическими параметрами, параметрами углеводного и липидного обмена, и морфологической картиной печени у пациентов с НАЖБП и без……..99

3.3.4. Анализ биохимических показателей и морфологической картины печени у пациентов с различной степенью инсулинорезистентности и разными нарушениями углеводного обмена……106

3.3.5. Анализ показателей органокинов в различных исследуемых группах……112

3.4. Молекулярно-биологическая часть исследования……..….129

3.4.1. Результаты экспрессии FXR методом Вестерн-блот ……129

3.4.2. Результаты экспресси FXR при помощи иммуногисттохимического исследования……129

3.4.3. Результаты экспрессии FXR при помощи ПЦР в реальном времени…….130

3.4.4. Результаты экспрессии толл-подобных рецепторов и провоспалительных цитокинов……..133

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ……136

- Ограничения исследования……..….155

ЗАКЛЮЧЕНИЕ……156

ВЫВОДЫ……..…158

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…….……159

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ……...160

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……162

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и сахарный диабет 2 типа (СД2) – патологические состояния, ассоциированные друг с другом и достигающие размеров эпидемии.

На сегодняшний день, по данным IDF Diabetes Atlas (10th edition, 2021 update) [1], в мире 537 млн человек в возрасте 20-79 лет – каждый десятый человек – страдают СД и к 2030г. это число может достигнуть 643 млн человек и к 2045г. – 783 млн человек; еще 541 млн (на 2021г.) имеют различные нарушения углеводного обмена.

В России же 7,392 млн человек в возрасте 20-79 лет страдают СД. Согласно исследованию NATION (первое национальное эпидемиологическое кросс-секционное исследование, проведенное на территории РФ, по выявлению распространенности СД2) [2] (проводилось в 2013-2015гг.) в РФ около 6% населения имеют СД. СД 2 типа диагностирован лишь у 54%. По данным Федерального регистра СД [3] на 01.01.2022г. в России зарегистрировано 4 871 863 больных (3,34% населения), пациенты с СД2 составляют 4, 498 млн пациентов. По экспертным оценкам в России в 2022г. зарегистрировано более 10 млн лиц с СД.

Распространенность НАЖБП в мире широко варьирует в зависимости от изучаемой популяции и от используемого метода диагностики, в среднем составляет 25,24%[4]. По данным литературы [5] распространенность неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) составляет от 3 до 5%, а цирроза на фоне НАЖБП – неизвестна в общей популяции.

По данным недавно вышедшего метаанализа общая распространенность НАЖБП среди больных СД2 составляет 55,5% [6].

Одним из наиболее значимых факторов риска развития как СД2, так и НАЖБП является ожирение, которое усиливает имеющуюся инсулинорезистентность (ИР). Последняя является основным

патогенетическим звеном СД2 и НАЖБП, связывая эти два патологических состояния.

ИР развивается задолго до манифестации СД2, однако в рутинной практике довольно сложно определить степень ИР. Наиболее точным является гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест, однако его использование ограничено в связи с экономическими и временными затратами, необходимостью специального оборудования. Использование таких математических моделей гомеостаза глюкозы, как HOMA-индекс, ограничено в связи с недостаточной надёжностью данного метода, трудностью его применения у пациентов с плохим гликемическим контролем, тяжелыми дисфункциями бета-клеток и/или у пациентов, находящихся на инсулинотерапии.

«Золотым» стандартом диагностики НАЖБП является пункционная биопсия печени под контролем ультразвукового исследования (с учетом анамнестических данных). Однако данный диагностический метод ограничен в применении из-за высокой стоимости, инвазивности и квалификации морфолога. Учитывая ограниченность применения метода и высокую распространенность заболевания в популяции, особенно у пациентов с СД2, отмечается повышенный интерес к поиску неинвазивных методов исследования и маркеров НАЖБП. Однако на данный момент нет единого алгоритма неинвазивного обследования пациента с НАЖБП. Уровень печеночных трансаминаз, визуализирующие методы, такие как УЗИ, КТ, МРТ не могут оценить степень стеатогепатита у пациентов с НАЖБП. Для определения прогрессирующего фиброза используются такие системы подсчета, как NAFLD Fibrosis Score, Enhanced Liver Fibrosis (ELF), а также транзиентная эластография и эластография сдвиговой волны. Ввиду малого накопленного опыта по использованию эластографии сдвиговой волны, не проведена полноценная оценка преимуществ этого метода. Тем не менее, стоит отметить очевидные преимущества: метод

характеризуется минимальным риском для здоровья обследуемого, относится к неинвазивным способам обследования и не требует специальных условий.

На данный момент активно изучаются свойства органокинов, синтезирующихся клетками печени, жировой ткани и скелетной мускулатуры, которые могут активно оказывать влияние на метаболические процессы. В будущем эти белки могут послужить новыми биомаркерами НАЖБП и ИР и предстать терапевтическими агентами в лечении метаболических заболеваний, в том числе СД2.

В настоящее время недостаточно изученным является механизм влияния повышенной гликемии на клетки печени. Одна из потенциальных связей между СД2 и НАЖБП – конечные продукты гликирования (КПГ), формирующиеся в результате неферментативного гликирования белков. На фоне сахарного диабета гликирование белков усиливается, что связано с повышением уровня глюкозы и ее производных как в плазме, так и в поврежденных сосудах. Взаимодействие КПГ с рецепторами к КПГ связано с индукцией оксидативного стресса и развитием фиброза. Учитывая, что СД2 является фактором риска прогрессирующего течения НАСГ, можно предположить, что именно гликирование белков в гепатоцитах (белков плазматической мембраны клеток синусоидального эндотелия печени) может вносить свой вклад в прогрессирование заболевания печени.

Несмотря на то, что НАЖБП является самым распространенным заболеванием печени, на данном этапе нет этиологического/патогенетического препарата для лечения. Учитывая, что основными звеньями патогенеза являются нарушенный метаболизм липидов, ИР и окислительный стресс, основные терапевтические воздействия направлены на эти звенья. Из ранее предложенных медикаментозных вмешательств, таких как снижение веса, метформин, тиазолидиндионы, витамин Е, урсодезоксихолевая кислота, омега-3-

жирные кислоты, статины, лишь снижение веса и тиазолидиндионы показали определенное влияние на морфологию печени при НАЖБП. На данный момент стали проводиться исследования по изучению влияния агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (арГПП-1) на течение НАЖБП у пациентов как с нарушением углеводного обмена, так и без него. По результатам последних завершенных исследований у пациентов, получающих терапию арГПП-1, отмечается улучшение морфологической картины печени, а также уменьшение количественного содержания жира по данным МР-спектроскопии (однако исследования проводились на небольшой когорте).

В настоящее время масштабные клинические исследования направлены на поиск эффективного метода лечения с учетом коморбидности пациентов с НАЖБП.

Цель исследования

Изучить чувствительность к инсулину и соотнести с лабораторными, инструментальными, морфологическим показателями поражения печени у пациентов с НАЖБП и различными нарушениями углеводного обмена.

Задачи исследования

1. Оценить влияние степени чувствительности к инсулину на развитие и прогрессирование НАЖБП при помощи математических моделей гомеостаза глюкозы и/или гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста у пациентов с НАЖБП с различными нарушениями углеводного обмена и без них, соотнести между собой эти методы.
2. Оценить влияние гликемического контроля на развитие и прогрессирование НАЖБП.
3. Определить корреляцию морфологических изменений (фиброза), полученных при проведении биопсии печени и оцененных с помощью эластографии сдвиговой волны печени с НАЖБП и различными нарушениями углеводного обмена.

4. Изучить экспрессию фарнезоидного X рецептора в ткани печени, как регулятора метаболизма липидов и глюкозы, при помощи молекулярно-биологического анализа у пациентов с НАЖБП и различными нарушениями углеводного обмена.
5. Изучить экспрессию толл-подобных рецепторов, провоспалительных цитокинов в ткани печени при помощи молекулярно-биологического анализа у пациентов с НАЖБП, различными нарушениями углеводного обмена, учитывая роль воспалительного процесса в патогенезе заболевания.

Научная новизна исследования

- Впервые в Российской Федерации была проведена оценка ИР, методом гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста, являющегося наиболее точным способом определения ИР, у пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом НАЖБП.
- Впервые в Российской Федерации были сопоставлены методы оценки ИР – эугликемический гиперинсулинемический клэмп-тест и с использованием математической модели гомеостаза глюкозы HOMA-IR у пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом НАЖБП.
- Впервые в Российской Федерации проанализировано влияние ИР, оцененной методом гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста, на прогрессирование НАЖБП.
- Впервые в Российской Федерации соотнесены данные по оценке фиброза печени методом эластографии сдвиговой волны и морфологическим исследованием у пациентов изучаемых групп.
- Впервые в Российской Федерации оценена экспрессия фарнезоидного X рецептора в ткани печени, полученной в ходе биопсии печени тремя различными методами.

- Впервые в Российской Федерации был проведен анализ экспрессии толл-подобных рецепторов в биоптатах печени: TLR2, TLR3 и TLR4, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 у пациентов изучаемых групп.

Практическая значимость.

В ходе работы выявлено, что в исследуемой выборке у 83% пациентов выявлена та или иная форма НАЖБП (ИМТ был более 27,5 кг/м^2), что говорит о низкой выявляемости патологии в рутинной практике и необходимости более тщательного диагностического поиска. У пациентов с различными формами НАЖБП выявлена более низкая чувствительность к инсулину по сравнению с пациентами без НАЖБП, соответственно данная когорта пациентов нуждается в более тщательном контроле нарушений углеводного обмена. Детально изучен профиль секретируемых органокинов у пациентов с различными клиническими формами НАЖБП, что дает основание для дальнейшего изучения неинвазивной диагностики НАЖБП. Изучен уровень экспрессии фарнезоидного Х рецептора у пациентов с НАЖБП, различной выраженностью инсулинорезистентности и различными нарушениями углеводного обмена, полученные результаты дают основания для дальнейшего изучения препаратов – агонистов фарнезоидного Х рецептора.

Полученные данные создают основу для разработки персонифицированного подхода к ведению пациентов с инсулинорезистентностью и разными формами неалкогольной жировой болезнью печени.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор лично провел анализ состояния научной проблемы в мире на основании литературных данных, сформулировал цель, задачи и дизайн

диссертационной работы, принимал непосредственное участие в работе с пациентами – сборе анамнестических данных, самостоятельном проведении перорального глюкозотолерантного теста, гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста (в том числе подготовка технического оборудования и катетеризация кубитальных вен), организации проведения лабораторных и инструментальных исследований, принимал участие в проведении молекулярно-биологического анализа. Основной объем работы по подготовке базы пациентов, статистической обработке данных и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций и докладов по теме работы выполнены лично автором.

Основные положения, выносимые на защиту

- ИР является важным фактором развития НАЖБП, однако ее степень не влияет на прогрессирование НАЖБП
- В данной когорте пациентов в рутинной клинической практике возможно использование математической модели гомеостаза глюкозы HOMA-IR для оценки ИР.
- На данный момент нет установленной лабораторной и неинвазивной инструментальной методики для оценки НАСГ.
- Уровень фиброза может быть оценен неинвазивно, однако необходимы крупномасштабные исследования для подтверждения этого факта.
- Органокины оказывают влияние на возникновение и прогрессирование НАЖБП, ИР и нарушений углеводного обмена.
- Данные по изучению фарнезоидного X рецептора могут быть использованы для разработки препаратов для лечения НАЖБП.

Апробация результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 13.12.2022г. на расширенном заседании межотделенческой научной конференции ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Результаты работы представлены на российских и международных медицинских и медико-биологических конференциях и конгрессах: II международное заседание Российского общества молодых эндокринологов, Ереван, Армения, 2017; VIII (XXV) Всероссийский диабетологический конгресс с международным участием – Москва, Россия, 2018; 54-ая ежегодная конференция EASD (Берлин, Германия, 2018); 43-ий конгресс Федерации Европейских биохимических обществ (Прага, Чехия, 2018); конгресс International Diabetes Federation 2019 (Пусан, Южная Корея, 2019).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе: 2 полнотекстовые статьи в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень изданий, рекомендуемых ВАК для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, 3 тезиса в сборниках российских конференций, 2 зарубежных тезиса.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 182 страницах, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, условных обозначений и списка литературы. Библиография включает 193 источника литературы (24 отечественные и 169 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 51 таблицей и 27 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) остается неохваченной патологией из-за ее все более высокой заболеваемости, тяжелых клинических последствий и отсутствия неинвазивного диагностического алгоритма и эффективных препаратов для лечения коморбидных пациентов.

1.1. Определение и эпидемиология неалкогольной жировой болезни печени

НАЖБП включает в себя спектр заболеваний печени, характеризующихся повышенным содержанием жира в печени (> 5%) — стеатозом — при отсутствии вторичных причин, а именно чрезмерное употребление алкоголя (>20 г/день для женщин и >40 г/день у мужчин), лекарства, вирусные гепатиты, гипотиреоз или некоторые наследственные состояния. Гистологически НАЖБП можно разделить на простой стеатоз, когда отмечаются только признаки стеатоза печени (триглицериды аккумулируются в виде липидных капель более чем в 5% гепатоцитов) и на неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), когда, помимо стеатоза может наблюдаться лобулярное воспаление и баллонная дистрофия гепатоцитов с перисинусоидальным фиброзом или без него (рис. 1-3). НАСГ, особенно с фиброзом, часто характеризуется худшим прогнозом и часто прогрессирует до более тяжелых состояний, таких как цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома, ассоциирован с сердечно-сосудистой смертностью [7]. Численность пациентов с НАЖБП прогрессивно растет и заболевание остается одним из наиболее частых хронических заболеваний печени, которым страдают 25% взрослого населения в целом [8]. Самая высокая распространенность отмечается на Ближнем Востоке (32%) и в Южной Америке (31%), за ней следуют Азия (27%), США (24%), Европа (23%) и Африка с самой низкой

распространенностью (14%) [9], [10]. В России, согласно многоцентровому исследованию DIREG2, у пациентов амбулаторного профиля распространенность НАЖБП по данным ультразвукового метода исследования составила 37,3% [11]. Что же касается НАСГ, то прямая оценка распространенности на популяционном уровне проблематична, поскольку для диагностики требуется биопсия печени, которая выполняется нечасто, по данным литературы распространенность НАСГ в общей популяции составляет 3-5% [12]. Серия случаев биопсии амбулаторных больных или живых доноров для трансплантации печени выявила НАСГ в 1,4–15% пациентов [13]. Оценки общей распространенности среди населения могут быть косвенно экстраполированы из серии случаев биопсии печени и из добровольных или направленных биопсий в исследованиях с участием пациентов с НАЖБП. Ожидается, что при использовании этих методов около 20% всех пациентов с НАЖБП будут демонстрировать гистологию НАСГ [14], [15]. На популяционном уровне большинство этих косвенных оценок предполагают, что у 3-6% взрослых есть НАСГ [14].

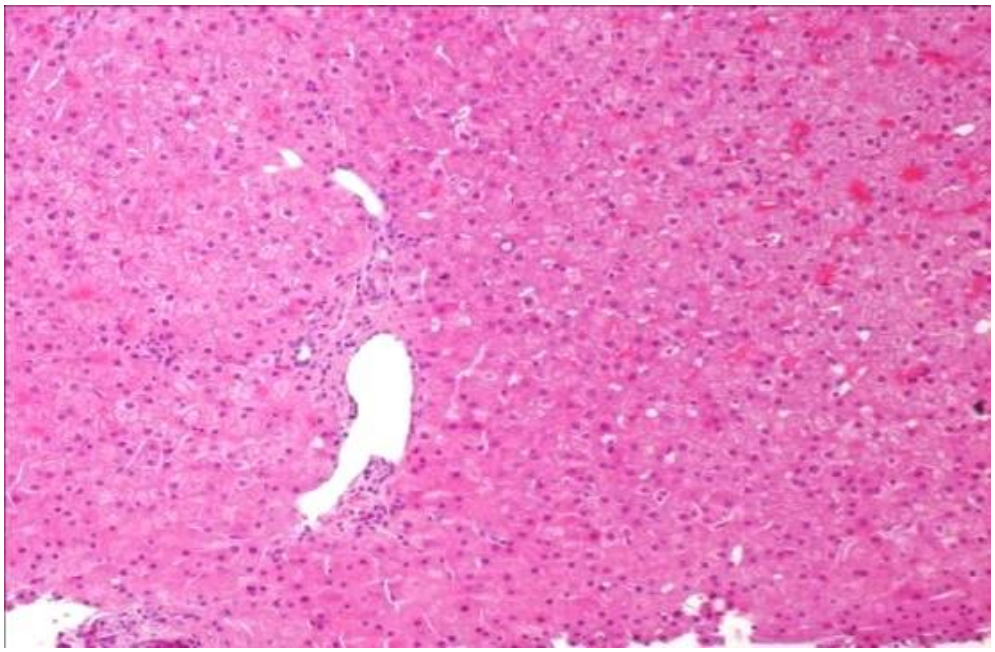


Рисунок 1. Нормальная печень (собственные иллюстрации морфологических образцов, окраска гематоксилином и эозином)

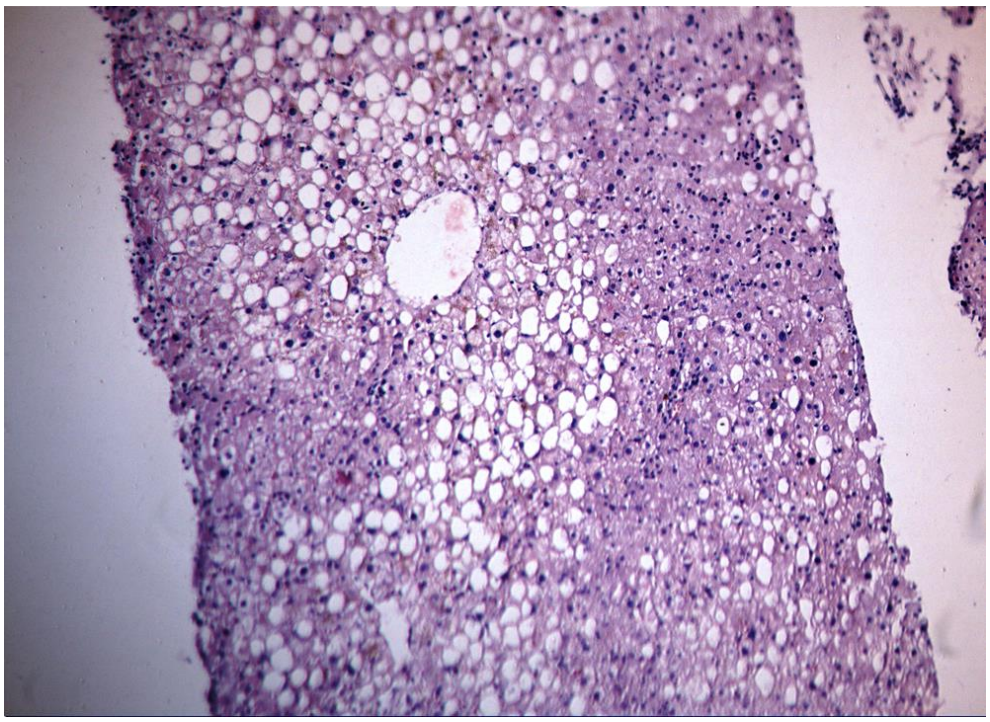


Рисунок 2. Стеатоз (собственные иллюстрации морфологических образцов, окраска гематоксилином и эозином)

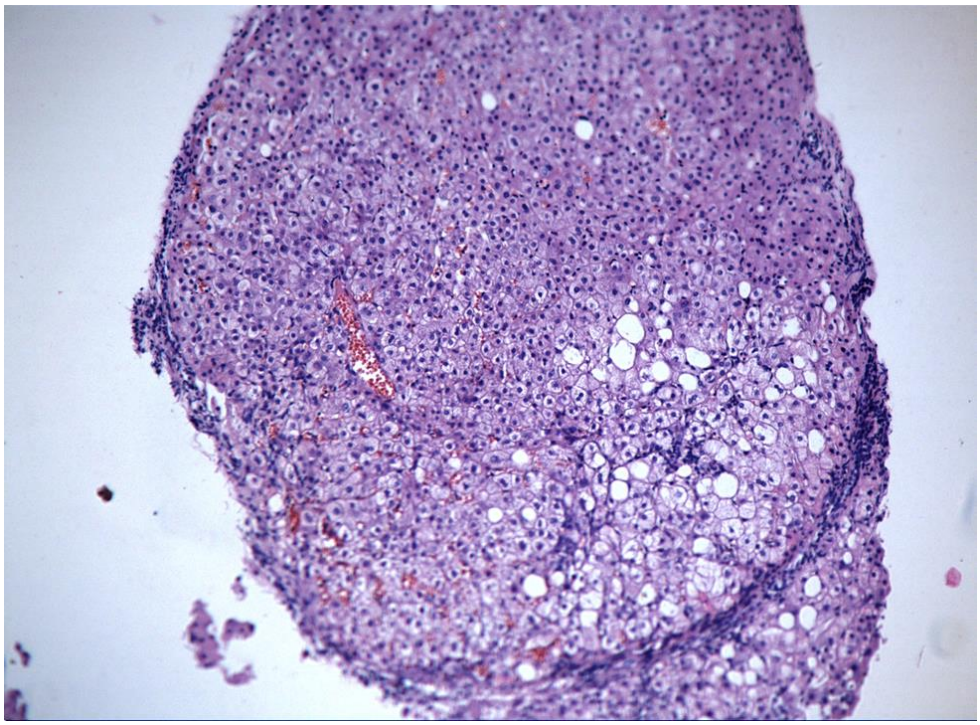


Рисунок 3. НАСГ (собственные иллюстрации морфологических образцов, окраска гематоксилином и эозином)

Клинически пациенты с НАЖБП, как правило, имеют такие компоненты метаболического синдрома, как ожирение, СД2, дислипидемия и артериальная гипертензия [3–5], [16]. Среди этих сопутствующих заболеваний, СД2, по-видимому, является наиболее

важным фактором риска развития НАЖБП и НАСГ, а также является наиболее важным клиническим предиктором неблагоприятных клинических исходов, таких как прогрессирующий фиброз печени и смертность [6]. СД болеет каждый 10-й из взрослого населения, в мире таких пациентов насчитывается более 537 млн [1]. Распространенность НАЖБП при СД2 изучалась в небольшом количестве исследований и составила 69% по данным УЗИ [17] и 65% по данным протонной МР-спектроскопии [18]. В связи с тем, что в последние годы отмечен рост заболеваемости НАЖБП при различных нарушениях углеводного обмена, особую актуальность приобрел поиск причинно-следственных связей этих коморбидных состояний, новых направлений их диагностики и методов лечения.

По данным недавно вышедшего метаанализа общая распространенность НАЖБП среди больных СД2 составляет 55,5%, тогда как глобальная распространенность НАСГ среди больных СД2 составляет 37,3% [6] (рис.5).

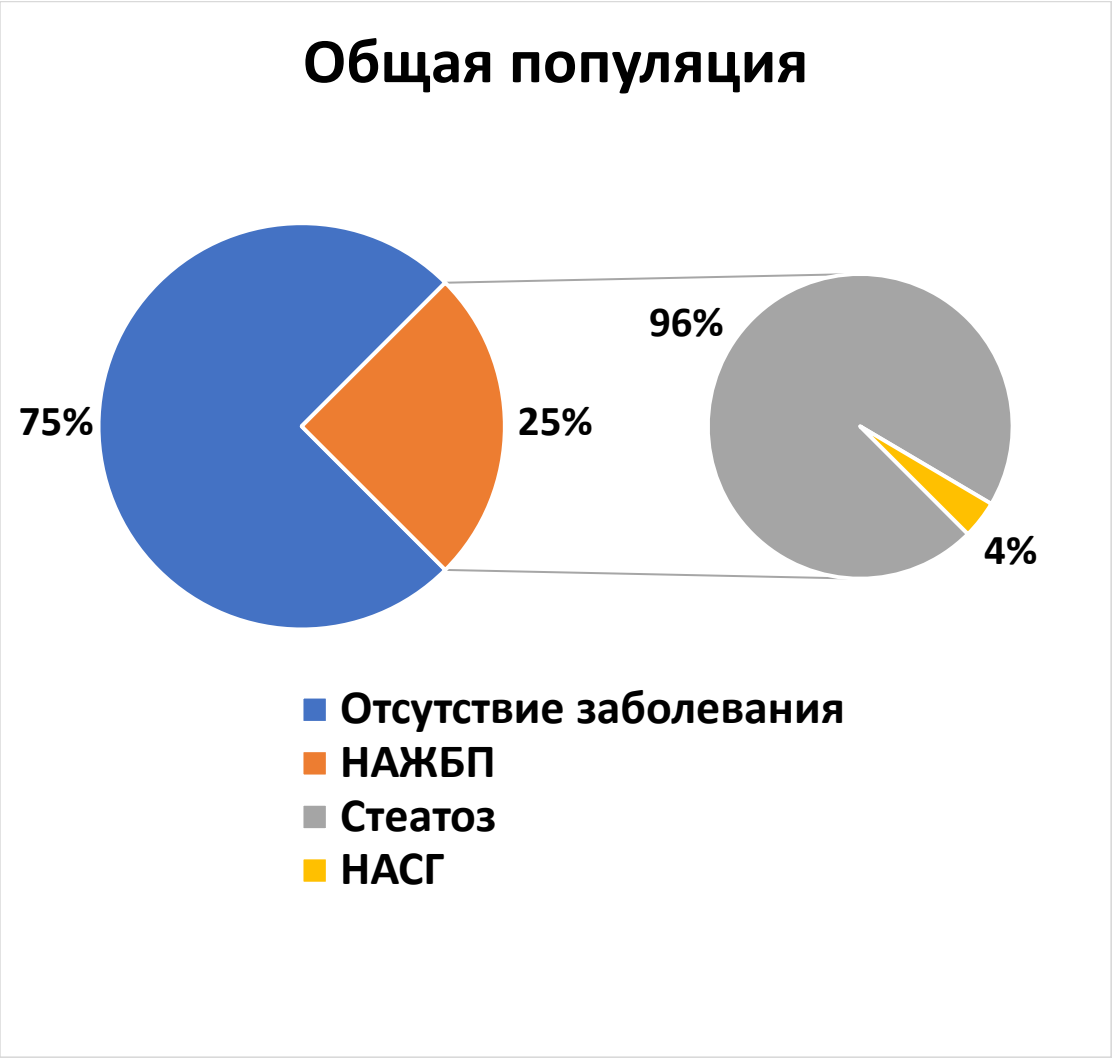


Рисунок 4. Распространенность НАЖБП и НАСГ в общей популяции.

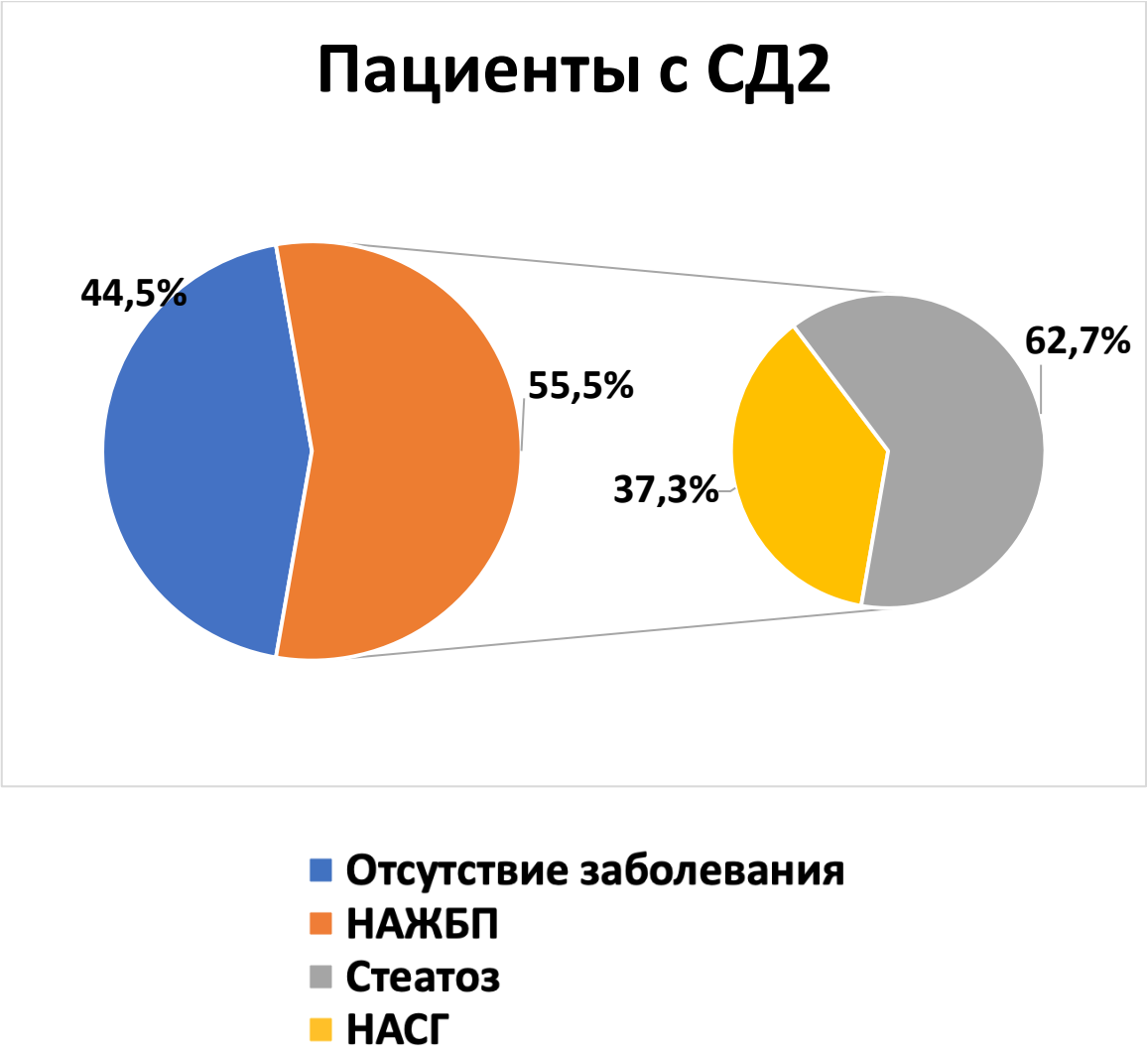


Рисунок 5. Распространенность НАЖБП и НАСГ у пациентов с СД2.

1.2 Патогенетические особенности неалкогольной жировой болезни печени

Учитывая гетерогенность патогенеза НАЖБП и ее растущей распространенности, ведущие мировые сообщества гепатологов [19] предложили переименовать НАЖБП в метаболически-ассоциированную жировую болезнь печени (МАЖБП) на основании наличия таких признаков, как избыточная масса тела/ожирение, СД2, что отражает вклад печени в метаболическую дисрегуляцию. Предложенная аббревиатура МАЖБП наиболее точно отражает текущие представления о жировой болезни печени, ассоциированной с нарушением метаболизма. Новый

подход к проблеме является важным шагом на пути к персонализированной медицине [20]. Однако утверждение данного термина остается дискутабельным.

Недавние данные показали, что внепеченочные органы влияют на прогрессирование НАЖБП [12–15]. Прогрессирующая дисфункция жировой ткани и инсулинорезистентность (ИР) являются ключевыми событиями в развитии НАСГ, поддерживая факт взаимодействия печени и жировой ткани.

Когда-то считавшаяся печеночным проявлением метаболического синдрома, НАЖБП в современных представлениях представляет собой континуум от ожирения до метаболического синдрома и СД2, поскольку появляется все больше данных, предполагающих, что она может предшествовать этим состояниям [21]. Но независимо от того, является ли НАЖБП причиной метаболического синдрома и СД2 или их следствием, ясно, что существует широкий спектр различных сигнальных молекул, которые взаимодействуют на разных уровнях и запускают порочный самовоспроизводящийся круг, что затрудняет определение первого «удара» и данная мысль соответствует теории «множественных ударов», которая включает большое количество патогенетических механизмов, ассоциированных с абдоминальным ожирением и ИР: оксидативный стресс, эндотелиальная дисфункция, хроническое сосудистое воспаление и изменение секреции адипоцитокинов, в особенности адипонектина, которые нарастают по мере прогрессирования патологических изменений печени от стеатоза к НАСГ [22], [23]. «Ожирение» печени является результатом повышения поступления в печень свободных жирных кислот в результате липолиза, снижения скорости β-окисления жирных кислот, избыточного синтеза липидов de novo в печени, снижения синтеза и секреции ЛПОНП. Свободные жирные кислоты поступают в воротную вену и печень. Снижаются связывание и деградация инсулина на уровне печени, что

приводит к торможению супрессивного действия инсулина на продукцию глюкозы печенью, к гиперинсулинемии и в конечном итоге к ИР [24].

Говоря об ожирении, как об основном спутнике НАЖБП, следует обратить внимание на дисфункцию жировой ткани, как основу метаболических процессов, происходящих у коморбидного пациента. Патологический вклад фиброза и воспаления в развитие ожирения и коморбидных состояний в последние десятилетия обсуждаются очень активно. Фиброз и воспаление все чаще рассматриваются как основные факторы дисфункции жировой ткани. В быстро растущей жировой ткани, перманентная гипоксия приводит к индукции фактора, индуцируемого гипоксией-1а (HIF1a), что, в свою очередь, приводит к запуску мощной профибротической программы. В исследовании на грызунах показано, что локальное воспаление жировой ткани связано с системной ИР [25]. Очень активно изучалась ассоциированная с ожирением инфильтрация макрофагами и моноцитами жировая ткань, однако все еще остается неизвестным данный процесс является вторичным по отношению к некрозу гепатоцитов на фоне увеличения жировой массы или это является результатом измененного профиля секрекции хемокинов адипоцитами, или же это влияние этих двух процессов. Что же касается более поздних процессов, связанные с взаимодействием воспаления жировой ткани и чувствительностью к инсулину, то эти процессы более изучены. Некоторые компоненты воспалительных путей задействованы в снижении чувствительности к инсулину, такие как TNF-α, путь c-Jun N терминальной киназы, NF-kB[25] TLR-4 экспрессируется как в макрофагах, так и в адипоцитах, играет ключевую роль в индукции или супрессии генов, ответственных за воспалительный ответ.

На связь развития ИР и НАЖБП обратили внимание уже давно. ИР характеризуется снижением утилизации глюкозы внепеченочными тканями, включая жировую ткань и скелетную мускулатуру. Резистентность к инсулину в жировой ткани приводит к неадекватному

высвобождению жирных кислот из-за нарушения регуляции липолиза, что еще больше способствует нарушению передачи сигналов инсулина по всему организму (рис.6).

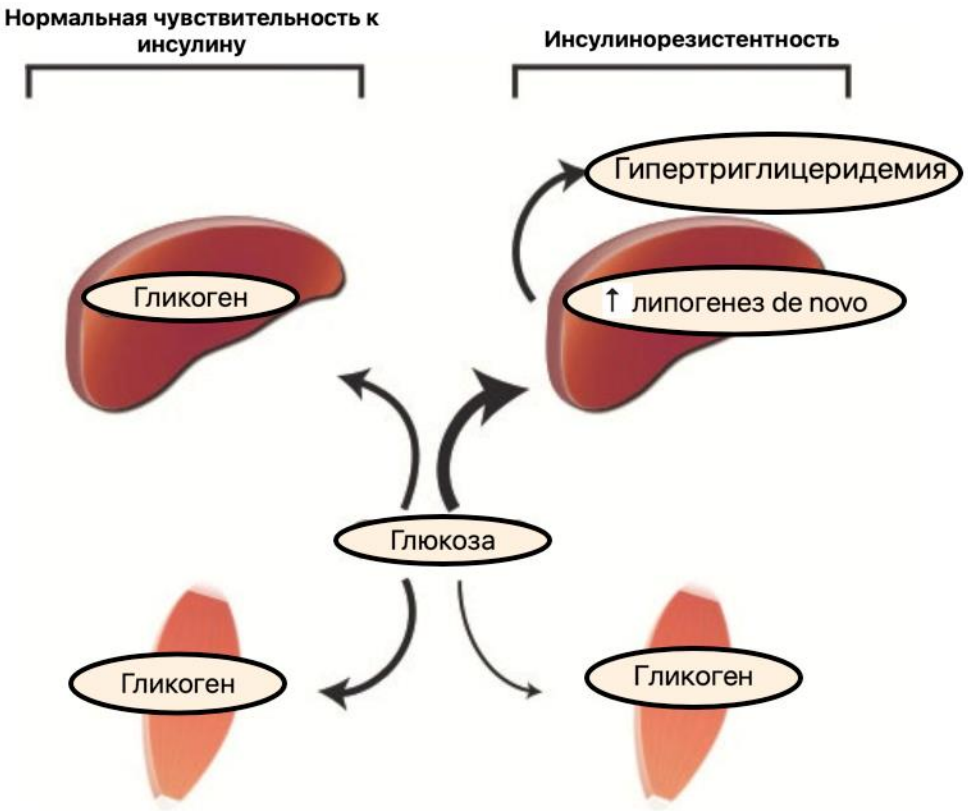


Рисунок 6. Схема распределения глюкозы после приема пищи с высоким содержанием углеводов у людей с ИР и нормальной чувствительностью к инсулину. В состояниях, чувствительных к инсулину, глюкоза не подвергается окислению и запасается в виде гликогена в печени и мышцах. При инсулинрезистентных состояниях поступление глюкозы в мышцу повреждено, что приводит к увеличению доставки ее в печень, где происходит липогенез de novo, что приводит к увеличению накопления и секреции триглицеридов в печени. Адаптировано из [26]

В 2001г. А.Саньял [27], известный эксперт в области заболеваний печени, изучал ИР и различные формы НАЖБП, а также влияние митохондриальной дисфункции на развитие НАСГ. В исследование были включены 6 пациентов со стеатозом, 6 пациентов с НАСГ и 6 субъектов – группа контроля. НАЖБП была подтверждена гистологически, всем

пациентам проведен 2-этапный гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест. Пациенты со стеатозом, как и с НАСГ имели периферическую ИР на уровне скелетной мускулатуры (поглощение глюкозы) и жировой ткани (липолиз – появление глицерола). Уровень окисления глюкозы был снижен и повышен уровень окисления липидов у пациентов с НАСГ по сравнению с группой «стеатоз», что позволило сделать вывод о большей ИР у пациентов с НАСГ. В 2007 г. ученых заинтересовала взаимосвязь ИР и развития более тяжелых форм развития НАЖБП, таких как НАСГ или НАСГ с фиброзом у пациентов с морбидным ожирением, которым предстоит бариатрическая операция [28]. Предположено, что снижение чувствительности к инсулину является основным патофизиологическим механизмом при НАСГ, однако ИР в данном исследовании оценивалась с помощью HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance гомеостатическая модельная оценка инсулинорезистентности) и QUICKI (Quantitave Insulin sensitivity Check Index - количественный индекс чувствительности к инсулину). В 2010г. в исследовании Ji Cheol Bae [29] и сооавторов было показано, что ИР у пациентов с НАЖБП более выражена по сравнению с группой без НАЖБП, однако исследование имеет ряд ограничений – и ИР, и наличие НАЖБП оценивались не на основании золотых методов определения данных процессов, был и использованы HOMA-IR и ультразвуковой метод диагностики. В том же 2010г. исследована взаимосвязь НАЖБП с различными компонентами метаболического синдрома [30], выявлено, что HOMA-IR выше у пациентов с НАЖБП (подтвержденная гистологически). В 2011г. исследователями была поставлена цель – определить, подвержены ли латиноамериканцы по сравнению с европеоидами большему риску более тяжелого НАСГ [31]. Степень стеатоза печени была оценена не только с помощью гистологического метода, но и с помощью МРС-визуализации, и оценены ключевые метаболические параметры, включая клэмп-метод.

При оценке ИР латиноамериканцы по сравнению с европеоидами не имели значимой разницы, а все пациенты с НАСГ имели более высокую степень ИР, чем пациенты из контрольной группы (здоровые добровольцы).

1.3 Диагностика неалкогольной жировой болезни печени

Диагноз НАЖБП ставят при исключении вторичных причин накопления жира в печени и значительного употребления алкоголя (более 30 г в день для мужчин и 20 г в день для женщин). Употребление алкоголя в дозах, превышающих отмеченные, указывает уже на алкогольную болезнь печени [32]. Вторичные причины накопления жира представлены в таблице 1 [33].

Таблица 1. Причины вторичного накопления жира в печени.

Хронический гепатит С	**Ассоциированные с беременностью** Острое повреждение печени во время беременно фоне HELLP-синдрома
Причины, связанные с питанием и гастроинтестинальным трактом • Резкая потеря массы тела (бариатрические операции) • Недостаточность питания • Парентеральное питание • Синдром короткой кишки • Избыточный бактериальный рост в тонком кишечнике, изменение микробиоты • Целиакия • Панкреатэктомия	**Токсины окружающей среды** • Металлы: свинец, мышьяк, ртуть, кадмий. • Гербициды, пестициды
Эндокринные нарушения • Гипотиреоз • Синдром поликистозных яичников • Заболевания гипоталамо-гипофизарной системы • Дефицит гормона роста	**Редкие генетические заболевания:** • Гемохроматоз • Дефицит альфа-1-антитрипсина • Болезнь Вильсона • Врожденная липодистрофия • Абеталипопротеинемия • Гипобеталипопротеинемия • Семейная гиперлипидемия • Дефицит лизосомальной кислой липазы • Болезни накопления гликогена • Наследственная непереносимость фруктозы
	Вызванные медикаментами: • Антиретровирусная терапия • Амиодарон • Метотрексат • Тамоксифен • Глюкокортикоиды • Тетрациклины

	• Вальпроевая кислота • Амфетамины • Ацетилсалициловая кислота

Соответственно у пациентов со случайно выявленным стеатозом необходимо подробно изучить семейный и личный анамнестические данные, и исключить вторичные причины стеатоза. Анализ метаболических нарушений должен включать тщательную оценку всех компонентов метаболического синдрома.

1.3.1. Классификация неалкогольной жировой болезни печени

Как было сказано выше НАЖБП включает в себя простой стеатоз, НАСГ с фиброзом и без. Для диагноза НАСГ необходимо и наличие стеатоза, и баллонной дистрофии и лобулярного воспаления (рис. 6). Таким образом, биопсия печени является наиболее достоверным методом диагностики НАСГ.

На данный момент научное сообщество нацелено на поиск неинвазивной диагностики НАЖБП и прогрессирующих стадий.

1.3.2. Неинвазивные методы диагностики стеатоза

Для диагностики стеатоза печени предлагаются следующие как некоммерческие, так и коммерческие неинвазивные тесты. Некоммерческие тесты:

• FLI (Fatty Liver Index – Индекс жировой дистрофии печени – рассчитывается на основании ОТ, ИМТ, ТГ в крови, ГГТП в крови);

• HSI (Hepatic Steatosis Index – Индекс стеатоза печени, формула: 8×[АЛТ/АСТ]+ИМТ [+2 для женщин; +2, если есть СД 2]);

• LAP (Lipid accumulation product – продукт накопления липидов (ОТ и ТГ в крови);

• NAFLD-LFS (NAFLD – liver fat score – НАЖБП – индекс стеатоза, учитывается наличие метаболического синдрома, СД2, АЛТ в крови и АСТ в крови).

Коммерческий неинвазивный тест: SteatoTestTM – количественный биомаркер стеатоза.

Неинвазивными визуализирующими методами диагностики стеатоза являются УЗИ брюшной полости, метод количественной магнитно-резонансной томографии (МРТ), который позволяет рассчитать количество жира в печени, FibroScan (Фиброскан) для количественной оценки стеатоза путем измерения затухания ультразвуковой эховолны, параметр CAP (Controlled attenuation parameter) [34].

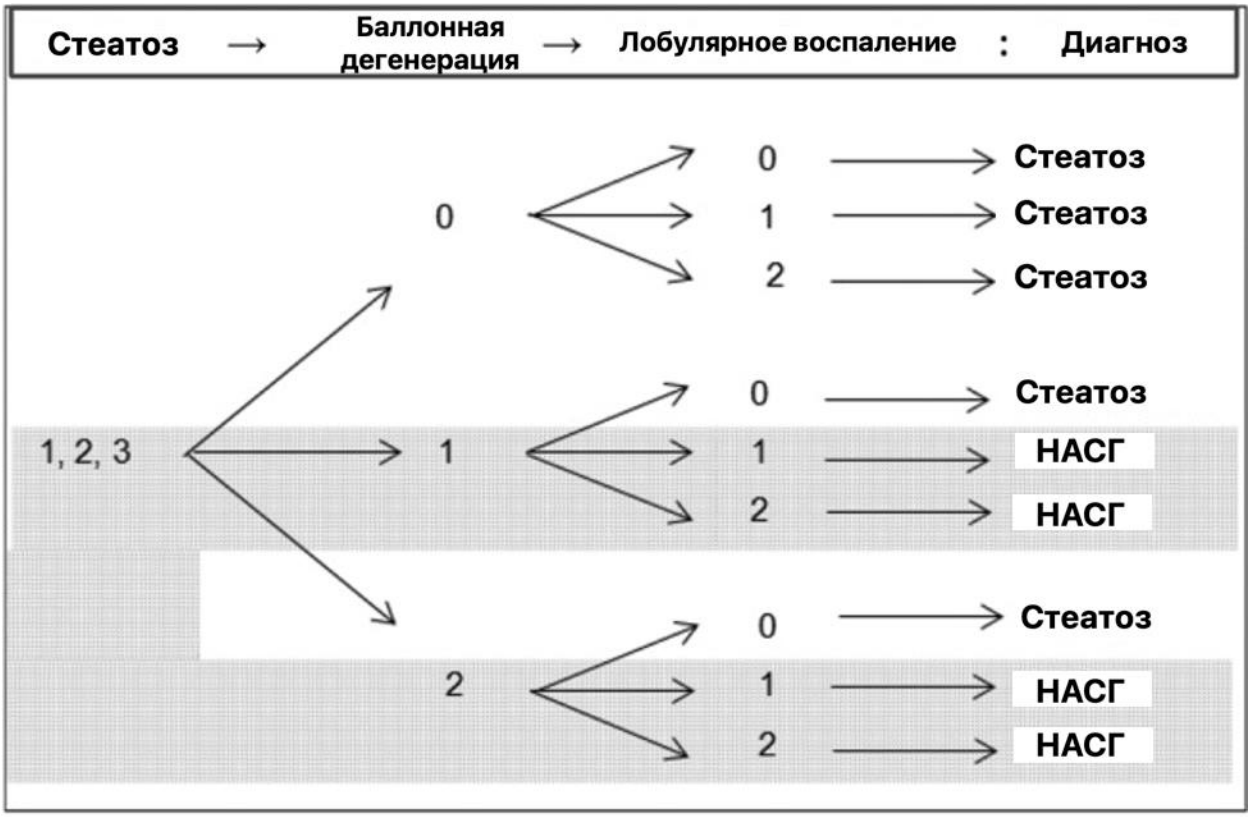


Рисунок 7. Диагностический алгоритм НАСГ. Адаптировано из [35]

1.3.3. Диагностика воспаления (НАСГ)

Основным методом диагностики НАСГ является биопсия печени. Гистологические критерии НАСГ: стеатоз, баллонная дистрофия, лобулярное воспаление. Остальные методы – определение цитокератина-18, комбинации клинических переменных не могут быть использованы в клинической практике ввиду дефицита валидационных исследований.

1.3.4. Неинвазивная диагностика фиброза печени

Неинвазивные диагностические тесты:

• NFS (NAFLD fibrosis score – шкала оценки фиброза при НАЖБП, оценивается комбинация 6 параметров, таких как возраст, ИМТ, АСТ/АЛТ, количество тромбоцитов, наличие гипергликемии и альбумин в крови);

• FIB-4 index for liver fibrosis – индекс для оценки фиброза печени, оценивается 4 параметра: АСТ, АЛТ и количество тромбоцитов, возраст;

• BARD включает в себя 3 параметра: АСТ/АЛТ≥0,8 – 2 балла; ИМТ≥28 – 1 балл; наличие СД – 1 балл;

• APRI (отношение АСТ к тромбоцитам);

• AAR (отношение АСТ к АЛТ);

• eLIFT (easy liver fibrosis test – тест для неинвазивной оценки фиброза) включает в себя такие параметры, как возраст, пол, ГГТП, АСТ, количество тромбоцитов и протромбиновое время;

• FibroMeter, FibroTest и ELF – три патентованные методики. Наиболее проверенными и надежными среди незапатентованных тестов являются NFS и FIB-4. Для NFS используются комбинации следующих показателей: возраст, ИМТ, наличие СД2, АСТ, АЛТ, тромбоциты и альбумин; для FIB-4 – возраст, АСТ, АЛТ, тромбоциты.

Расчет индекса NFS проводят по формуле:

–1,675 + 0,037 × возраст (годы) + 0,094 х ИМТ (кг/м^2) + 1,13 × гипергликемия или СД (да=1, нет=0) + 0,99 ×АСТ/АЛТ – 0,013 × тромбоциты – 0,66 × альбумин.

Расчет индекса FIB-4 проводят по формуле [36]:

$$\text{FIB-4} = \frac{\text{возраст (годы)} \cdot \text{АСТ}\left(\frac{\text{Ед}}{\text{л}}\right)}{\text{тромбоциты}\left(\frac{109}{\text{л}}\right) \cdot \sqrt{\text{АЛТ}\left(\frac{\text{Ед}}{\text{л}}\right)}}.$$

На практике используют следующие пороговые значения (точки отсечения) для решения вопроса о том, есть у пациента с НАЖБП тяжелый фиброз или его нет: 1,3 для FIB-4 и -1,455 для NFS (высокая чувствительность) и 3,25 для FIB-4 и 0,676 для NFS (высокая специфичность). FibroTest – для расчета применяются тромбоциты, протромбиновый индекс, АСТ, а-2-макроглобулин, гиалуроновая кислота, мочевина, возраст и пол). ELF состоит из 3 компонентов: пептид проколлагена III типа (PIIINP), гиалуроновой кислоты и тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP1).

Одним из неинвазивных методов определения фиброза является эластография печени. Данная методика привлекает внимание клиницистов ввиду неинвазивности, возможности проводить многократные обследования, которые не требуют специфической подготовки и безопасны для пациента, прогностической ценности при циррозе, малую операторозависимость, относительно невысокую стоимость [37]. По физическим свойствам выделяют два вида эластографии – стрейновая и эластография сдвиговой волны (от англ. Shear wave — сдвиговая волна). Стрейновая (компрессионная) эластография —дает качественную информацию, характеризующую жесткость одной ткани по сравнению с другой. Эластография сдвиговой волны — это количественный метод, позволяющий измерить уровень жесткости ткани, что может быть оценено с помощью скорости сдвиговой волны (ССВ) в м/с или конвертировано в модуль Юнга и выраженного в

кПа [38]. Методы эластографии, интегрированные в клиническую практику по классификации T. Shiina [39], могут быть разделены на четыре группы: компрессионная, транзиентная, точечная эластография сдвиговой волны, двухмерная эластография сдвиговой волны. Компрессионная эластография основывается на фиксации деформации тканей, которые подверглись медленно изменяющейся компрессии посредством записи отраженных эхосигналов. Для ее оценки используются ультразвуковые аппараты со специальным программным обеспечением. Транзиентная эластография проводится за счет внешней вибрации тканей механическим ударным стержнем, генерирующий сдвиговые волны, скорость которых выражается в кПа. Для проведения данного метода используется аппарат Фиброскан. Точечная эластография сдвиговой волны – используется компрессия тканей за счет применения усиленного акустического излучения, генерируемого ультразвуковым аппаратом. Деформация ткани вызывает сдвиговую волну, которая оценивается в зависимости от жесткости ткани. Определяется специальным программным обеспечением ультразвуковых аппаратов. При проведении двухмерной эластографии сдвиговой волны также используется звуковое излучение для генерации множественных сдвиговых волн на различной глубине и количественный показатель демонстрируется в виде цветного изображения. Определяется специальным программным обеспечением ультразвуковых аппаратов.

Измерение плотности ткани печени посредством методик сдвиговой волны, сопоставимо по своей точности с транзиентной эластографией, однако данные по пациентам с НАЖБП ограничены [35]

1.3.5. Инвазивная диагностика НАЖБП

Биопсия печени позволяет с высокой степенью достоверности подтвердить наличие НАЖБП, провести дифференциальный диагноз между стеатозом и НАСГ, оценить стадию фиброза и на основании

гистологических данных прогнозировать дальнейшее течение заболевания, а также исключить другие причины поражения печени [40]

Биопсия печени должна рассматриваться у пациентов с НАЖБП и с высоким риском НАСГ и фиброза, а также с подозрением на НАЖБП для исключения другой этиологии стеатоза и когда наличие других хронических заболеваний печени не может быть исключено без биопсии.

В 2005 г. на основе консенсуса экспертов (CRN) морфологов для оценки НАЖБП предложена Шкала оценки активности НАЖБП (NAFLD activity score — NAS) (табл.2), которая является модификацией используемых ранее шкал E. Brunt и Matteoni 1999 г. и позволяет оценить степень морфологических изменений в баллах (от 0 до 8): выраженность стеатоза печени, внутридолькового (лобулярного) воспаления, баллонной дистрофии гепатоцитов и стадию фиброза [40]. NAS получила широкое признание при определении НАСГ, хотя она никогда не предназначалась для замены решения патологоанатома о наличии НАСГ или ее отсутствии. Несмотря на высокую вариабельность, по крайней мере, двух из трех компонентов NAS, и ограниченные данные о способности NAS предсказывать исход заболевания, NAS рекомендуется использовать для определения и количественной оценки активности заболевания в клинических исследованиях.

В исследовании [41] показано, что при НАЖБП стадия фиброза является более надежным предиктором, чем NAS, как общей, так и смертности от заболеваний печени. Худший прогноз был выявлен у пациентов со стадией фиброза 3 или 4. Интересно, что пациенты с высоким показателем NAS, но без тяжелого фиброза – стадия 0-2, не показали высокого показателя смертности по сравнению с популяцией.

Таблица 2. Шкала активности НАЖБП (NAS – NAFLD Activity Score). Адаптировано из [42]

Степень активности= S+L+B (диапазон 0 - 8)					
Стеатоз	**Показатель S**	**Лобулярное воспаление**	**Показатель L**	**Баллонная дистрофия**	**Показатель B**
<5%	0	нет	0	нет	0
5-33%	1	<2	1	Несколько клеток	1
33-66%	2	2-4	2	Много клеток	2
>66%	3	>4	3		

Стадия фиброза при НАСГ	**Стадия**
нет	0
Умеренный перисинуидальный фиброз зона 3	1a
Средний перисинуидальный фиброз зона 3	1b
Только портальный/перипортальный фиброз	1c
Перисинуидальный фиброз зона 3 портальный/перипортальный фиброз	2
Мостовидный фиброз	3
Цирроз	4

Гистологическая картина печени при НАЖБП характеризуется наличием крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов преимущественно в третьей зоне ацинуса, а также баллонной дистрофии. Воспалительная реакция при НАСГ преимущественно представлена внутридольковыми инфильтратами, состоящими из полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоцитов и мононуклеарных фагоцитов. Тельца Маллори обнаруживаются не во всех случаях и в меньшем количестве, чем при алкогольном гепатите. Перисинусоидальный и перицеллюлярный фиброз на ранней стадии выявляется в третьей зоне ацинуса и может прогрессировать с формированием септ и цирроза [43].

В классификации фиброза, могут быть использованы шкалы Knodell, Metavir, Ishak (табл.3).

Таблица 3. Фиброз печени. Стадии фиброза печени по шкале Knodell, Metavir, Ishak.

Баллы	KNODELL	ISHAK	METAVIR
0	Фиброз отсутствует	Фиброз отсутствует	Фиброз отсутствует
1	Фиброзное расширение портальных трактов	Фиброзное расширение портальных трактов с или без коротких фиброзных септ	Звездчатое расширение портальных трактов без образования септ
2	Расширение портальных трактов + портопортальные септы	Фиброзное расширение большинства портальных трактов с или без коротких фиброзных септ	Расширение портальных трактов с единичными портопортальными септами
3	Мостовидный фиброз - портопортальные или портоцентральные септы	Фиброзное расширение большинства портальных трактов с единичными мостовидными портопортальными септами	Многочисленные портоцентральные септы без цирроза
4	Цирроз	Фиброзное расширение портальных трактов с выраженными мостовидными портопортальными и портоцентральными септами	Цирроз
5	-	-	-
6	-	Цирроз, вероятный или достоверный	-

1.3.6. Печень - эндокринный орган. Секреторные факторы печени

Прогресс в комплексных генетических, транскриптомных и протеомных технологиях позволил лучше понять роль печени как органа, имеющего эндокринную функцию. Кроме того, печень является связывающим звеном в регуляции метаболических процессов, за счет высвобождения различных секреторных факторов, в том числе гепатокинов [44], [45] [46][47]. Первое сообщение о том, что при НАЖБП, а именно при стеатозе, происходит нарушение секреции белковых фракций, относится к 2012 г. [31]. Использовался метод количественной масс-спектрометрии, по данным которого в здоровом состоянии гепатоциты мыши секретируют 564 белка. Из этих секретированных белков 168 имеют N-концевой секреторный пептид, являющийся индикатором «классически секретируемого» белкового продукта, в то время как оставшиеся белки секретируются «неклассическими» путями, такими как экзосомальный транспорт или лизосомальная секреция. Профиль «классически секретируемых» белков чувствителен к стеатозу; у 20% из них наблюдается нарушение секреции, что и было выявлено при стеатозе. Последующий биоинформационный анализ этих стеатоз-ассоциированных изменений в белковой секреции, являющихся предикторами процесса воспаления и нарушений метаболизма, показал, что поврежденный белковый профиль ухудшает действие инсулина и активирует провоспалительные пути. На основании проведенных исследований печеночный стеатоз можно рассматривать как раннюю манифестацию перегрузки печени жирными кислотами, и нарушенная секреция белков из печени может способствовать влиянию на ИР [48].

Гепатокины представляют собой гормоноподобные белки, в основном секретируемые гепатоцитами, причем секреторный профиль гепатокинов, как известно, заметно нарушается при НАЖБП. НАЖБП часто предшествует дисфункции других органов в условиях

метаболической дисрегуляции. Можно предположить, что нарушенная секреция гепатокинов может служить повреждающим фактором во внутриорганных молекулярных связях, что может служить триггером метаболических нарушений во всем организме. Печень напрямую связана с системной циркуляцией крови, получая значительное количество крови от сердца через печеночную артерию и от гастроинтестинального тракта через портальную вену, обмениваясь питательными веществами и другими субстратами через синусоиды, затем кровь проходит через печеночную вену и нижнюю полую вену, направляясь к сердцу для рециркуляции по всему организму [49]. Учитывая ее секреторные способности, как эндокринного органа, можно ожидать, что печень играет фундаментальную роль в межорганных взаимодействиях, посредством высвобождения секреторных белков, включая гепатокины [44]. С того момента, как было выяснено, что факторы, секретируемые гепатоцитами являются медиаторами метаболической регуляции между печенью и другими органами, гепатокинам стало уделяться особое внимание со стороны научного сообщества, предполагая, что они могут стать новыми мишенями в регуляции энергетического гомеостаза и лечении метаболических заболеваний [44].

Ниже приведена таблица 4, где суммированы данные по основным органокинам.

Таблица 4. Органокины и их биологические функции

Гепатокины	**Органы и клетки-мишени**	**Биологические функции**
Ангиопоэтинподобный белок 4	Жировая ткань, эндотелиальные клетки сосудов	● Ингибирует активность липопротеинлипазы ● Повышает уровень триглицеридов ● Повышает липолиз адипоцитов ● Подавление продукции глюкозы печенью
Фетуин А	Печень, жировая ткань, скелетная	• Заблокированы сигналы инсулина путем ингибирования тирозин-киназы инсулинового рецептора

	мускулатура, моноциты	(печень, жировая ткань, скелетные мышцы) • Воспалительный ответ (моноциты, адипоциты) • Ингибирование продукции адипонектина
Фетуин B	Печень, мышцы	• Индуцированная инсулинорезистентность (гепатоциты, мышцы) • Ускорение липогенеза (гепатоциты)
FGF21	Белая жировая ткань/ бурая жировая ткань, печень, скелетная мускулатура, печень, ЦНС	• Повышенное поглощение глюкозы (адипоциты) • Стимулированный термогенез (белая жировая ткань) • Повышенная секреция инсулина (β-клетки поджелудочной железы) • Повышенное окисление жирных кислот и улучшение чувстви-тельности к инсулину (печень, скелетная мускулатура) ● Улучшение показателей НАЖБП ● Снижение поглощения ЛПОНП и липогенеза (печень) ● Снижение потребления алкоголя и сахара ● Увеличение расхода энергии и снижение массы тела (ЦНС)
Цитокератин-18, Fas L	Гепатоциты	Неинвазивный биомаркер НАСГ, апоптоза
Гепассоцин	Печень, скелетная мускулатура, белая жировая ткань	Индуцирует развитие ИР, НАЖБП, адипогенез
Лептин	Белая жировая ткань, мозг, тонкая кишка, скелетная мускулатура, плацента	• Контролирует аппетит и массу тела на уровне гипоталамуса • Регулирует секрецию инсулина, термогенез, гомеостаз липидов, репродуктивные функции, воспаление, ангиогенез, фосфорно-кальциевый обмен
Адипонектин	Продуцируется жировой тканью, костным мозгом, скелетной мускулатурой,	• Усиливает окисление жирных кислот и усвоение глюкозы в мышцами

	сердечной мышцей	• Снижает синтез глюкозы печенью • Влияет на ожирение, сердечно-сосудистые заболевания
Резистин	Продуцируется макрофагами, мононуклеарными лейкоцитами, клетками костного мозга, селезенкой	• Регулирует уровень глюкозы и липидный обмен, усиливает ИР • Стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов и дифференцировку моноцитов в макрофаги
Висфатин	Продуцируется адипоцитами и макрофагами жировой ткан	• Стимуляция • продукции и накоп триацилглицеролов в жировой ткан • Повреждение • инсулинового сигналинга
Бетатрофин	Продуцируется адипоцитами и гепатоцитами	• Играет роль в метаболизме липидов, в том числе снижая уровень триглицеридов, участвует в дифференцировке адипоцитов. Повышен при СД.

Ангиопоэтинподобные белки – семейство гликопротеинов, секретирующиеся в основном печенью, а также жировой тканью [50], известно 8 типов [51]. Они играют важную роль в метаболизме липидов, контролируют уровень липидов в плазме путем ингибирования фермента липопротеинлипазы, тем самым подавляя клиренс липопротеинов, богатых триглицеридами, что приводит к повышению уровня триглицеридов в плазме [52]. Это приводит к формироанию печеночного стеатоза. Также ангиопоэтинподобные белки участвуют в ангиогенезе, регулируя выживание и адгезию эндотелиальных клеток. Ангиопоэтинподобный белок 4 - наиболее изученный член семейства ангиопоэтинподобных белков, продуцируется печенью и жировой тканью. Уровень транскрипта гена ангиопоэтинподобного белка 4 повышается в печени в условиях голодания посредством сигналинга рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом альфа (PPAR-альфа) и подавляется после возобновления питания. По данным

проведенных клинических исследований получены неоднозначные данные – по результатам исследований уровень ангиопоэтинподобного белка 4 у пациентов с СД2 и у пациентов с ожирением был повышен [53], [54], [55], в то время как концентрация ангиопоэтинподобного белка 4 была снижена в другой когорте пациентов с СД2 [56]. Эти данные показывают, что нужны дополнительные исследования в данной области.

Фетуины представляют собой гликопротеины, в основном синтезируемые в печени и секретируемые в кровоток. Фетуины принадлежат к надсемейству цистатиновых белков, которые опосредуют транспорт веществ кровью в качестве переносчиков. В то время как сывороточный альбумин является наиболее распространенным белком-носителем плазмы у взрослых, фетуинами более обогащена кровь плода, которые идентифицируются как основные белки плазмы во время внутриутробной жизни, пик их концентрации достигается вскоре после рождения [57]. Фетуин-А, является первым обнаруженным гепатокином, влияющим на межорганные связи в регуляции метаболического гомеостаза [58].

Фетуин-А преимущественно вырабатывается и секретируется в печени, при этом в недавних исследованиях описаны другие источники продукции фетуина-А, включая висцеральный и подкожный жир [59] [60]. Первоначально фетуин-А привлек большое внимание как естественный ингибитор инсулинового рецептора, обладающего тирозинкиназной активностью, в печени, жировой ткани и скелетных мышцах [61].

Эти результаты были дополнительно подтверждены улучшением передачи сигналов инсулина, уменьшением количества жира у мышей, нокаутированных по гену фетуина А [62].

Последующие исследования продемонстрировали, что уровень циркулирующего белка фетуина А возрастает у пациентов с НАЖБП, ИР и ожирением [63]. Также, высказывается предположение, что Фетуин-А

провоцирует воспалительную реакцию за счет увеличения продукции провоспалительных цитокинов в моноцитах и адипоцитах, таким образом индуцируя ИР [64].

Кроме того, фетуин-А служит эндогенным лигандом для толл-подобного рецептора 4 (TLR4), опосредуя вызванную свободной жирной кислотой сигнальную активацию TLR4, индуцируя резистентность к инсулину [65]. Было обнаружено, что фетуин-А отрицательно регулирует выработку адипонектина, тем самым влияя на системную ИР [66]. Суммируя указанные данные, можно говорить о значительном вкладе фетуина-А в воспалительный сигналинг и метаболические процессы, таким образом может представлять собой потенциальную мишень для лечения метаболических заболеваний, включая ИР и СД2. Фетуин В - еще один член семейства фетуинов, который имеет примерно 24% гомологичности с фетуином-А у грызунов и человека [57] [67]. Как и фетуин А, фетуин В в основном вырабатывается и секретируется печенью. Недавно проведенные клеточные испытания показали, что фетуин В индуцирует ИР в гепатоцитах, так же, как и в миоцитах, а также способствует накоплению липидов в клетках HepG2, по-видимому, за счет его способности снижать активность AMPK путем активации передачи сигналов α-SREBP-1c рецептора X печени. Появляющиеся данные клинических исследований продемонстрировали, что уровень фетуина В повышен у пациентов с НАЖБП и ИР [68]. Учитывая близкое родство фетуина А и фетуина В, их показатели были повышены и имели обратную корреляцию со стадией фиброза печени у пациентов с НАЖБП [69]. Показано, что фетуин А и фетуин В несколько по-разному могут влиять на метаболизм глюкозы – фетуин А воздействует на инсулиновый сигналинг, а фетуин В воздействует на эффективность усвоения глюкозы, таким образом воздействуя на метаболические процессы совместно.

Гепатокин FGF21 подает большие надежды как потенциальный терапевтический агент для широкого спектра метаболических

нарушений, таких как ожирение, СД2, НАЖБП [58], [70]. FGF21 экспрессируется в различных органах, включая печень, белую и бурую жировую ткань, поджелудочную железу. Показано, что уровень FGF21 в плазме возрастает на фоне увеличения тяжести печеночного стеатоза [70], [71], и положительно ассоциирован с показателями триглицеридов, ИРИ, и отрицательно коррелирует с индексом массы тела, липопротеинами высокой плотности [72], [73]. Эти данные позволяют предположить, что циркулирующий уровень FGF21 может коррелировать с тяжестью печеночного стеатоза и может свидетельствовать о прогрессировании НАЖБП [72]. Стоит обратить внимание, что FGF21 позитивно регулирует различные клеточные процессы и улучшает различные метаболические нарушения, что проявляется способностью поглощения глюкозы культивируемыми адипоцитами [74], усилением функции β-клеток поджелудочной железы и секреции инсулина [75], активацией окисления жирных кислот и чувствительности к инсулину, улучшением стеатоза печени и гликемического контроля [76].

Учитывая многообещающее терапевтическое воздействие FGF21, разработаны фармакологические стратегии с использованием аналогов или миметиков FGF21 для лечения ожирения, СД2, НАСГ и проведены клинические исследования [77]–[80]. По полученным данным отмечается значительное улучшение дислипидемии и несущественное улучшение гликемического контроля у пациентов с ожирением, СД2. Кроме того, эти фармакологические вмешательства уменьшали выраженность стеатоза печени, а также некоторые биомаркеры фиброза печени, хотя положительного влияния на гистологию печени и другие клинические исходы НАСГ достичь не удалось [78], [79], предполагая, что более комплексные и целенаправленные подходы необходимы для улучшения терапевтической эффективности и безопасности аналогов FGF21 [81].

Печень является основным органом, где хранится большая часть витамина А в нашем организме в форме ретиноловых эфиров. Фермент

печени гидролизует ретиноловый эфир до ретинола, который в свою очередь связывается с ретинол-связывающим белком-4 (RBP4) в гепатоцитах. Главная функция RBP4 заключается в транспортировке ретинола в кровоток [82]. RBP4 также играет важную роль в развитии метаболического синдрома. Еще в 2005г. Yang Q. и сооавторы обратили внимание на то, что RBP4 способствует развитию инсулинорезистентности при ожирении и СД2. В исследовании на мышах было показано, что действие инсулина было улучшено у нокаутных мышей по RBP4 и у мышей, получавших препарат фенретинид (синтетический ретиноид с объемной боковой цепью, вызывающий почечную экскрецию RBP4) и снижение уровня RBP4 в сыворотке [83]. RBP4 напрямую способствует базальному липолизу в адипоцитах [84], а также вызывает воспаление жировой ткани за счет увеличения тканевых макрофагов и инфильтрации CD4 Т-клеток, что приводит к системной инсулинорезистентности [85]. Гепатоциты являются основным источником циркулирующего RBP4, но адипоциты также секретируют RBP4. Экспрессия RBP4 в сыворотке и жировой ткани увеличивается у пациентов с ожирением [84], тогда как уровни RBP4 в сыворотке снижаются при физической нагрузке и после проведения бариатрической операции [86], [87]. Кроме того, эти уровни повышены у пациентов с НАЖБП, ИР, СД2 [88]–[90]. Клинические данные свидетельствуют о том, что RBP4 связан со стеатозом печени и ИР.

Цитокератин-18 (СК-18) представляет собой расщепленный каспазой фрагмент, высвобождаемый поврежденными клетками гепатоцитов, а уровень СК-18 в сыворотке считается маркером повреждения гепатоцитов. Концентрация СК-18 является на данный момент наиболее изученным и проверенным методом неинвазивной диагностики НАСГ, однако на практике применяется неповсеместно. В исследовании [91], включившем 139 пациентов, целью которого являлось исследование диагностической ценности показателя СК-18,

продемонстировало, что СК-18 обладает средней диагностической ценностью в отношении диагностики НАСГ. Отрезная точка СК-18 равна 250 Ед/л (чувствительность = 75%, 95% ДИ: 64%-83%; специфичность=81%, 95% ДИ: 61%-93%).

Fas это рецептор, отвечающий за гибель из семейства рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО), экспрессируется в различных тканях, в том числе в большом количестве в печени [92]. Активируется он Fas лигандом (Fas L). Показано, что Fas-сигналинг является связующим звеном между НАЖБП и повышенной восприимчивостью к поражению печени.

На мышиных моделях с диетиндуцированным ожирением и у пациентов с НАСГ выявлено значительное увеличение печеночных рецепторов Fas, что привело к увеличению чувствительности печени к эндогенному лиганду Fas (FasL) [93]. По данным полуколичественного анализа экспрессия Fas была значительно выше у пациентов с НАСГ по сравнению с пациентами со стеатозом. В исследовании [94] продемонстрирована повышенная чувствительность к Fas-опосредованному апоптозу гепатоцитов в диетиндуцированной модели НАЖБП, которая повторяет многие основные черты человеческого НАЖБП, включая ожирение, ИР, гиперлептинемию, повышенный уровень свободных жирных кислот в сыворотке крови. Патологическое увеличение гибели клеток в печени, а также в периферических тканях стало важным механизмом, участвующим в развитии и прогрессировании НАЖБП. Увеличение гибели клеток гепатоцитов в результате апоптоза при НАЖБП является типичной картиной для данного заболевания и в экспериментальных моделях стеатогепатита, в то время как увеличение гибели адипоцитов в висцеральной жировой ткани может быть важным механизмом, запускающим ИР и стеатоз печени. Существует два основных пути апоптоза, внешний (опосредованный рецепторами) и внутренний (инициируемый органеллами) [95].

Гепассоцин, также известный как гепатоцитарный фибриногенподобный белок-1 (HFREP1), усиливает свое влияние во время регенерации печени и подавляется в гепатоцеллюлярных клетках карциномы. Его экспрессия контролируется печеночным ядерным фактором-1α [96]. Сообщается о терапевтическом эффекте рекомбинантного человеческого гепассоцина при фульминантной печеночной недостаточности [97].

Гепассоцин способствует инсулинорезистентности и СД2. Уровень гепассоцина плазмы был повышен у участников с предиабетом и с впервые выявленным СД по сравнению с участниками без нарушений углеводного обмена [98].

В ходе исследования [99] уровень сывороточного гепассоцина повышен у пациентов с НАЖБП по сравнению с пациентами без НАЖБП. Факторы печеночного повреждения и воспаления, такие как интерлейкин-1β, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли, были индуцированы путем гиперэкспрессии гепассоцина. Также в исследовании на мышах показано, что гистологические составляющие NAFLD activity score (такие как стеатоз, баллонная дистрофия, лобулярное воспаление) были выше с гепассоцин-трансгенных мышах по сравнению с контролем [100]. Таким образом, гепассоцин играет важную роль в развитии печеночного стеатоза.

Ожирение тесно связано с ИР и НАЖБП. Уровни гепассоцина были значительно повышены у субъектов с избыточным весом и ожирением [101]. Более того, показатель сывороточного гепассоцина положительно коррелировал с показателями ожирения, включая индекс массы тела, окружность талии и площади жировой ткани (общая, висцеральная и подкожная) у человека [102].

Одним из методов диагностики, привлекающих большой интерес ученых, служит оценка уровня сывороточных маркеров обмена коллагена. PIIINP (N-терминальный пропептид проколлагена III типа) —

белок, образующийся в процессе синтеза и деградации коллагена III типа и представляет собой ранний маркер ремоделирования тканей и фиброза при таких состояниях как сердечная недостаточность, атеросклероз, легочная артериальная гипертензия [103]. Уровень сывороточного PIIINP повышается при прогрессировании печеночного повреждения в ходе хронических заболеваний печени. Таким образом, можно предположить, что PIIINP может быть маркером прогрессирования фиброза печени.

Появились панели реактивов для определения степени фиброза ELF, что позволяет судить о степени фиброза печени. В формулу для ее расчета входят значения уровней следующих белков сыворотки крови: гиалуроновой кислоты, тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (TIMP-1) и PIIINP (N-терминальный пропептид проколлагена III типа):

ELF= –7,412+(ln[гиалуроновая кислота]·0,681)+

(ln[P3NP]·0,775) (ln[TIMP-1]·0,494).

Значение AUROC для обнаружения прогрессирующего фиброза с помощью данного теста равнялось 0,90; чувствительность и специфичность составили 89 и 96% соответственно. С высокой точностью фиброз печени можно исключить при ELF= –1,455 (отрицательное прогностическое значение 98%). ELF≥0,676 свидетельствует о наличии выраженного фиброза (положительное прогностическое значение 80%) [104].

Метаанализ [105] имеющихся данных показал, что панель ELF демонстрирует высокую чувствительность, но ограниченную специфичность для исключения прогрессирующего и значительного фиброза у пациентов с НАЖБП при использовании низких пороговых значений. Также было обнаружено, что эффективность теста для диагностики значительного и прогрессирующего фиброза при более высоких пороговых значениях ограничена в контексте низкой распространенности заболевания (5–10%). Клиницисты должны тщательно учитывать вероятную априорную распространенность

заболевания в условиях своей клинической практики и выбирать подходящий порог теста на местном уровне для достижения желаемого уровня эффективности теста с точки зрения чувствительности, специфичности и прогностической ценности.

FABP4 (белок, связывающий жирные кислоты 4), также называемый адипоцитарным FABP, представляет собой внутриклеточный связывающий липиды белок, в основном экспрессируемый в адипоцитах, но также и в макрофагах, дендритных и эндотелиальных клетках [106]. Кроме того, было обнаружено, что экспрессия гена FABP4 активируется в печени пациентов с морбидным ожирением в контексте резистентности к инсулину [107] и у пациентов с различной степенью тяжести НАЖБП.

FABP4 регулирует как метаболизм липидов, так и чувствительность к инсулину [108] Как клинические, так и экспериментальные исследования определили FABP4 не только как новый инструмент для диагностики, но и как важное звено, участвующее в оказании терапевтического воздействия на течение НАЖБП. Следовательно, снижение циркулирующих уровней этого адипокина может напрямую влиять на начало и прогрессирование заболевания. Учитывая, что основным источником FABP4 является жировая ткань [109], [110], снижение ее секреции адипоцитами за счет регуляции путей AC-PKA и GC-PKG может уменьшить влияние FABP4, полученного из жировой ткани, на печень. Подходы, нацеленные на ингибирование FABP4, включая синтетические ингибиторы FABP4 [111]–[114], природные ингибиторы FABP4 [115], нейтрализующие антитела FABP4 [116], [117], могут рассматриваться как многообещающие терапевтические средства в борьбе с НАЖБП. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования, направленные на определение эффективности и безопасности ингибиторов FABP4, прежде чем рассматривать их как многообещающий вариант лечения НАЖБП.

Лептин является предшественником и наиболее известным членом семейства адипокинов, играет важную ключевую роль в гомеостазе аппетита и массы тела за счет увеличения анорексигенных нейропептидов и подавления факторов, стимулирующих аппетит, в центральной нервной системе. Повышение концентрации лептина снижает аппетит и приводит к уменьшению массы тела[118]. Однако при ожирении, несмотря на рост концентрации лептина, его анорексигенный эффект снижается. Данное состояние принято называть лептинорезистентностью (ЛР). ЛР развивается вследствие дефекта передачи внутриклеточных сигналов от лептинового рецептора или снижения транспорта лептина через гематоэнцефалический барьер [119]. Лептин - первый описанный адипокин, взаимодействующий с печеночным метаболизмом. Хотя экспериментальные исследования представили лептин, как органокин, имеющий свойства, направленные против стеатоза, однако имеющий провоспалительные и профиброгенные свойства, соответствующие данные клинических исследований пациентов с НАЖБП неубедительны. Они получены в основном на основе кросс-секционных исследований, в то время как проспективные когортные исследования ограничены. Эти исследования могут дать ограниченные информацию по взаимодействию между лептином и НАЖБП, но в настоящее время причинно-следственная связь не может быть установлена.

Совсем недавно было обнаружено, что лептин является медиатором секреции инсулина и воздействует начувствительность периферических тканей к инсулину [120]. Роль лептина в изменении метаболизма глюкозы и чувствительности к инсулину при СД2 полностью не изучена.

Напротив, адипонектин, секретируемый адипоцитами гормон, обратно коррелировал с ожирением и чувствительностью к инсулину, уровнем глюкозы и метаболизмом липидов [121], [122]. В настоящее время накоплены данные о том, что адипонектин обладает протективными свойствами - защищает печень от стеатоза, воспаления, и

фиброза [123]. Адипонектин увеличивает способность инсулина подавлять выработку глюкозы, предотвращает печеночный липогенез de novo, подавляет синтез жирных кислот в гепатоцитах и печеночный глюконеогенез и повышает уровень β-окисления жирных кислот [123], в целом защищая печень от стеатоза. Адипонектин также способствует снижению продукции провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-6 и ФНО-α, через модуляцию сигналинга TLR4. Также адипоцитокин стимулирует секрецию противовоспалительных цитокинов – ИЛ-10, блокирует активацию NFκβ. Поэтому в настоящее время пристальное внимание уделяется восстановлению баланса лептин-адипонектин, то есть восстановление, связанного с ожирением повышенного уровня лептина и сниженного уровня адипонектина, что может вложить свой вклад в лечение НАЖБП.

Резистин (названный в честь его способности индуцировать ИР) член-основатель резистиноподобных молекул, семейства небольших секретируемых пептидов, богатых цистеином с гормоноподобной и провоспалительной активностью. В основном секретируется жировой тканью и воспалительными клетками. Выяснено, что резистин имеет плейотропные эффекты, включая регуляцию уровня глюкозы и метаболизма липидов, индукцию ИР и секреции провоспалительных цитокинов и дифференцировку моноцитов в макрофаги [124].

В исследованиях на мышиных и клеточных моделях отмечена положительная корреляция между резистином и ИР, стеатозом и печеночным воспалением, но данные по клиническим исследованиям остаются спорными. Систематический обзор Bekaert et al. включил 12 исследований, в которых сообщается об уровне резистина у пациентов с подтвержденной НАЖБП по данным биопсии, из которых 6 сообщили о статистически значимых результатах [125]. Уровни циркулирующего резистина положительно коррелировали со стеатозом печени, печеночным воспалением и показателями NAFLD activity score у

пациентов с НАЖБП без СД2 [126], [127]. Важно отметить, что Aller и сооавторы. обнаружили, что резистин является суррогатным маркером ИР (использовался HOMA-IR для оценки ИР) [128]. Напротив, в исследовании [129] описана отрицательная корреляция между уровнем циркулирующего резистина и степенью стеатоза у пациентов с морбидным ожирением и НАЖБП. Остальные исследования, включенные в цитируемый метаанализ, не продемонстрировали связь резистина с гистологическими параметрами печени у пациентов с НАЖБП с ожирением и без ожирения [130], [131].

Висфатин (также известный как PBEF и NAMPT), цитоплазматический белок с молекулярной массой 52 кДа, состоящий из 473 аминокислотных остатков. Он экспрессируется прежде всего в жировой ткани, костном мозге, мышцах и в ткани печени, но также может быть обнаружен в плаценте, легких, почках и в ткани сердца. Висфатин получил свое название в связи с гиперэкспрессией в висцеральном жире [132].

В дополнение к своей роли в ожирении висфатин также имеет и другие биологические функции. Он является ферментом никотинамид фосфорибозилтрансферазой (NAMPT), катализирующей первый этап биосинтеза NAD из никотинамида. Сообщалось также, что висфатин - цитокин (PBEF), который способствует созреванию В-клеток и ингибирует апоптоз нейтрофилов. Внутриклеточный NAMPT регулирует митохондриальный биогенез, клеточный метаболизм и выживание, а также адаптивный ответ на клеточный стресс; было описано, что висфатин модулирует β-клеточную функцию поджелудочной железы (регуляция гликемического гомеостаза и ИР) [133]. Внеклеточный NAMPT действует в основном как индуктор продукции провоспалительных цитокинов [134].

Увеличение уровня висфатина ассоциировано с ожирением, СД2, ИР (оценена по HOMA-IR) [132]. Что касается гистологических

параметров, большинство данных не сообщают о какой-либо корреляции между сывороточным висфатином и стеатозом печени, воспалением или фиброзом [135]. Однако Аллер и др. сообщили, что уровни циркулирующего висфатина могут предсказывать портальное воспаление, но не стеатоз или фиброз у пациентов с НАЖБП и ожирением без СД2 [136]. Кроме того, Кукла и соавторы обнаружили положительную корреляцию между экспрессией печеночного висфатина и стадией фиброза, но не стеатоза печени и воспаления у пациентов с морбидным ожирением НАЖБП [137], в то время как Гаддипати и др. сообщили о положительной корреляции между экспрессией висфатина в висцеральной жировой ткани и степенью стеатоза у пациентов с НАЖБП без диабета [138].

Проведено не так много клинических испытаний, где оценивается вклад соблюдения диетических рекомендаций, модификации образа жизни, терапевтических агентов на циркуляцию адипокинов у пациентов с НАЖБП.

Снижение массы тела, которое служило следствием модификации образа жизни или бариатрической хирургии, в популяции пациентов с НАЖБП привело к снижению лептина [139]–[141], резистина [142], ретинол-связывающего белка 4 [140], висфатина [142] и хемерина [140], [142] и к повышению уровня адипонектина.

Тем не менее, прямые зависимости между выраженностью стеатоза печени, потерей массы тела и уровнями адипокинов почти не исследовались.

Результаты предшествующих исследований дали возможность понять, что нарушения в секреции адипоцитокинов могут приводить к ИР и/или нарушенной секреции инсулина. Адипоцитокины могут играть важную роль во взаимодействии процессов ожирения, ИР и возникновении впоследствии СД2.

1.3.7. Роль фарнезоидного Х рецептора в патогенезе НАЖБП

Терапевтические цели НАЖБП разнообразны и основаны на недавних фундаментальных и клинических исследованиях, которые выявили факторы, участвующие в патогенезе и прогрессировании НАЖБП. Среди этих факторов — ИР, дисбаланс адипоцитокинов, чрезмерный окислительный стресс, нарушение регуляции липидного и углеводного обмена и фиброгенез. Большинство из вышеупомянутых факторов прямо или косвенно регулируются фарнезоидным Х-рецептором (FXR), ядерным рецептором, регулируемым желчными кислотами, что делает этот рецептор потенциально полезной фармакологической мишенью для лечения НАЖБП. Это утверждение было ранее подтверждено доклиническими исследованиями [143], [144], а недавняя публикация исследования FLINT [145], многоцентрового, рандомизированного и плацебо-контролируемого исследования, изучающего эффекты обетихолевой кислоты, синтетического агониста FXR, у пациентов со стеатогепатитом дает шанс на возможность эффективного метода лечения НАСГ.

В последнее десятилетие желчные кислоты стали ключевыми модуляторами метаболизма благодаря их способности действовать как лиганды ядерных и мембранных рецепторов. После основополагающих сообщений, демонстрирующих, что FXR действует как внутриклеточный сенсор для желчных кислот [146] и что его дефицит определяет важные изменения в метаболизме липидов и углеводов [147], накопилось огромное количество информации о критической роли FXR в различных клеточных процессах в тканях, преимущественно в печени и кишечнике. В качестве фактора транскрипции, когда FXR активируется лигандом (то есть природной желчной кислотой, хенодезоксихолевой кислотой или синтетическим соединением – обетихолевой кислотой), он димеризуется с ядерным рецептором-партнером, ретиноидным Х-рецептором, затем перемещается в ядро, регулируя экспрессию множественных генов.

Одним из этих генов является короткий гетеродимерный партнер, SHP, который контролирует экспрессию холестерин-7α-гидроксилазы (CYP7A1), ключевого фермента в синтезе желчных кислот. Посредством этого пути, наряду с контролем импорта и экспорта желчных кислот через регуляцию мембранных транспортеров, FXR регулирует внутриклеточные уровни желчных кислот, что имеет решающее значение для предотвращения повреждения и гибели гепатоцитов.

Печеночные эффекты FXR, которые имеют отношение к патофизиологии НАСГ:

1. Фактор транскрипции, белок 1c, связывающий регуляторный элемент стерола (SREBP1c), который контролирует липогенез de novo, процесс, который активируется у пациентов с НАСГ, подавляется FXR.
2. Рецептор, активируемый пролифератором пероксисом-α (PPAR-α), который контролирует использование клетками жирных кислот, активируется FXR.
3. Фосфоенолпируваткарбоксикиназа (PEPCK), ключевой фермент глюконеогенеза, который, как было показано, подавляется желчными кислотами.
4. NF-κB - фактор транскрипции, который управляет воспалением, активность и передача сигналов которого снижаются агонистами FXR.

Решающая роль FXR в синтезе желчных кислот, а также в энергетическом гомеостазе и воспалении печени и, возможно, фиброзе привела к активному поиску агентов для фармакологической модуляции этих путей, при этом обетихолевая кислота была первым препаратом в своем классе агонистом FXR, который был протестирован в клинических испытаниях. Исследование FLINT представляло собой рандомизированное контролируемое исследование фазы 2b. В исследовании приняли участие 283 пациента с подтвержденным

диагнозом НАСГ без цирроза печени по данным биопсии, которые получали либо 25 мг обетихолевой кислоты ежедневно (n=141), либо плацебо (n=142) в течение 72 недель. Первичной конечной точкой было гистологическое улучшение НАСГ, оцениваемое по изменению показателя активности НАЖБП (NAS) в 2 балла. Дополнительными рассматриваемыми исходами были уровни ферментов печени в сыворотке, содержание липидов в печени (оцененное с помощью МРТ) резистентность к инсулину и липиды в сыворотке. При первичном анализе у 45% (50 из 110) пациентов в группе лечения обетихолевой кислотой гистологические параметры печени улучшилась по сравнению с 21% (23 из 109) в группе плацебо (p=0,002). Хотя улучшение гистологических параметров определили тенденцию к разрешению НАСГ, доля пациентов, достигших этой конечной точки, не отличалась между теми, кто получал плацебо, и теми, кто получал обетихолевую кислоту. В дополнение к гистологическим данным в группе лечения было обнаружено значительное снижение уровня ферментов печени в сыворотке, а также умеренная (-2 кг) потеря веса и небольшое снижение систолического артериального давления. Кроме того, несколько неожиданно было повышение уровня инсулина в сыворотке и HOMA-IR, что свидетельствует о более выраженной ИР у субъектов, получавших обетихолевую кислоту. Наконец, у пациентов, получавших обетихолевую кислоту, наблюдались значительные изменения липидов в сыворотке, заключающихся в повышении уровня общего холестерина, ЛПНП и умеренном снижении ЛПВП (p = 0,01). Медикаментозное лечение дислипидемии было начато во время лечения.

В целом лечение обетихолевой кислотой переносилось хорошо. Единственным побочным эффектом был зуд. Данный побочный эффект легко купировался и редко ассоциировался с необходимостью отмены препарата.

Результаты исследования FLINT действительно многообещающие, поскольку значительное улучшение гистологии печени считается «жесткой конечной точкой» в области НАСГ. Уменьшение фиброза (35% пациентов, получавших обетихолевую кислоту, регрессировали на одну стадию или более по сравнению с 19% в группе плацебо) у пациентов, получавших обетихолевую кислоту, особенно привлекает внимание, поскольку это не было продемонстрировано с другими соединениями в контролируемых исследованиях, такими как витамин Е и пиоглитазон.

Следует отметить, что фиброз печени тесно связан как с общей, так и с печеночной смертностью у пациентов с НАЖБП. Однако остается недоказанным, действительно ли это изменение степени фиброза приводит к положительным эффектам с точки зрения выживаемости. То же самое относится и к снижению баллов по NAS [148]. Кроме того, необходимо более подробно изучить значение наблюдаемых изменений профиля липидов в сыворотке крови на сердечно-сосудистые исходы, а также терапевтическую стратегию лечения дислипидемии у пациентов, получающих обетихолевую кислоту, поскольку взаимодействие между этим препаратом и гиполипидемическими препаратами может вызывать опасения по поводу безопасности терапии.

Примечательно, что обетихолевая кислота пока является единственным препаратом, для которого крупное исследование фазы 3, REGENERATE [149], подтвердило при промежуточном анализе результаты меньшего исследования фазы 2b FLINT с гистологическими конечными точками. Эта гистологическая эффективность была подтверждена биохимическим улучшением: 66% пациентов, получавших обетихолевую кислоту, с повышенным уровнем АЛТ на исходном уровне нормализовали уровень АЛТ по сравнению с 36% пациентов, получавших плацебо. Важно отметить, что снижение АЛТ было более выраженным у гистологически ответивших пациентов, чем у неответивших.

Основываясь на более ранних 6-недельных клэмп-исследованиях у пациентов с диабетом, в которых было зафиксировано дозозависимое повышение чувствительности к инсулину [150], ожидалось, что лечение обетихолевой кислотой улучшит гликемические параметры. Пациенты были случайным образом распределены по группам, получавшим плацебо (n=23), 25 мг обетихолевой кислоты (n=20) или 50 мг обетихолевой кислоты (n=21) один раз в день в течение 6 недель. Для измерения чувствительности к инсулину до и после 6-недельного периода лечения использовали двухэтапный гиперинсулинемический эугликемический клэмп. Чувствительность к инсулину увеличилась на 24,5% (p=0,011) в комбинированных группах обетихолевой кислоты, тогда как в группе плацебо она снизилась на 5,5%. К сожалению, исследование REGENERATE не продемонстрировало такой пользы, а скорее показали минимальное повышение уровня HbA1c у участников с СД.

В совокупности исследования FLINT и REGENERATE показали уникальный пример фармакологического препарата с подтвержденным гистологическим антифибротическим эффектом у пациентов с НАСГ. В настоящее время проводятся другие исследования фазы 3 в попытке подтвердить гистологическую пользу, доказанную или предложенную в испытаниях фазы 2 [151]–[153]. Задача для всех этих исследований фазы 3 будет заключаться в том, чтобы продемонстрировать, что гистологическое улучшение при промежуточном анализе приведет к долгосрочному клиническому улучшению.

Таким образом, общая распространенность НАЖБП среди больных СД2 составляет 55,5%. НАЖБП включает в себя спектр заболеваний печени, таких как стеатоз, стеатогепатит с фиброзом или без. Среди сопутствующих заболеваний, СД2 является наиболее важным фактором риска развития НАЖБП и НАСГ, а также является наиболее важным клиническим предиктором неблагоприятных клинических исходов.

Дисфункция жировой ткани и ИР являются ключевыми пасогенетическими факторами в развитии НАЖБП. На данный момент научное сообщество нацелено на поиск неинвазивной диагностики НАЖБП и прогрессирующих стадий. Однако биопсия печени все еще остается высокодостоверным методом диагностики НАЖБП. В настоящее время активно изучаются гепатокины – гормоноподобные белки, влияющие на метаболические процессы, нарушенная секреция которых может быть патогенетическим фактором развития и прогрессирования НАЖБП. Фарнезоидный Х-рецептором (FXR) - ядерный рецептор, регулируемый желчными кислотами, что делает этот рецептор потенциально полезной фармакологической мишенью для лечения НАЖБП, в настоящее время проводятся клинические исследования, посвященные данной проблеме.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы исследования

Исследование являлось двухцентровым одномоментным активным исследованием по принципу «случай-контроль».

Целевая популяция включена в исследование путем сплошного способа формирования выборки согласно критериям включения и невключения (рис.8).

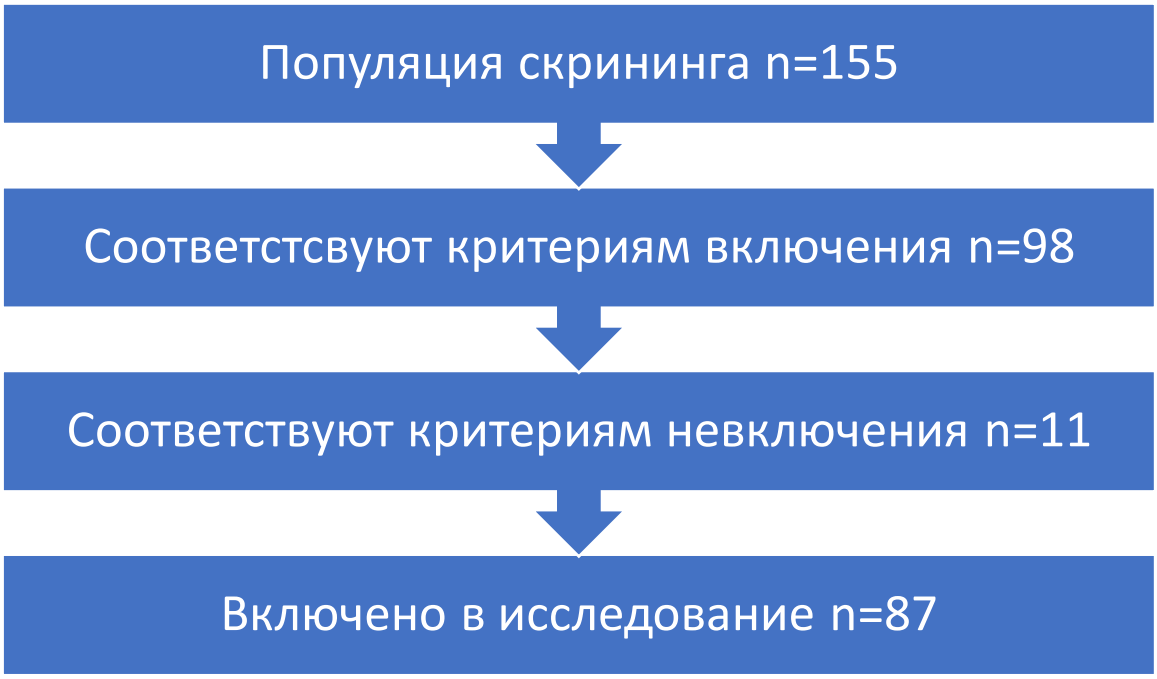


Рисунок 8. Формирование изучаемой выборки из общей популяции пациентов.

Критерии соответствия

Критерии включения

- возраст от 18 до 65 лет;
- пациенты без сахароснижающей терапии;
- ИМТ более 27,5 кг/м^2;
- подписанное информированное согласие;
- наличие диагноза «нет НАЖБП» или «стеатоз» или «НАСГ».

Критерии невключения

- СД1 и другие специфические типы СД;
- онкологические заболевания в анамнезе;
- перенесенное ОРВИ или обострение хронического заболевания в течение последнего месяца, тяжелые заболевания сердечно-сосудистой системы

за последние 6 месяцев (инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, коронарное шунтирование, коронарная ангиопластика, застойная сердечная недостаточность III-IV по NYHA);

- наличие причин вторичного накопления жира в печени, таких как избыточное потребление алкоголя (более 21 усл. ед. в неделю для мужчин и более 14 усл. ед. в неделю для женщин, 1 усл. ед. – 10 г чистого спирта), использование препаратов, влияющих на накопление жира (глюкокортикоиды, метотрексат, амиодарон, синтетические эстрогены, тамоксифен, дилтиазем), наследственные и вирусные заболевания печени, гипотиреоз различной этиологии;
- беременность, планирование беременности.

2.1.1. Дизайн исследования

Исследование состояло из двух частей – из клинической и молекулярно-биологической (рис.9).

Объектом исследования являлись 87 пациентов с избыточной массой тела (ИМТ более 27,5 кг/м^2)/ожирением без сахароснижающей терапии. Включение и обследование пациентов проводилось с июня 2017 г. по июнь 2019 г.

Каждый пациент совершил по семь амбулаторных консультаций/манипуляций и 1 визит в виде госпитализации в дневной стационар. На первом визите всем пациентам, включенным в исследование, проводился сбор анамнеза, определялись антропометрические данные, проводилась биоимпедансометрия, лабораторная диагностика нарушений углеводного обмена (проведение перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ), определение гликированного гемоглобина), оценивался необходимый спектр лабораторных показателей, в том числе HOMA-IR, также проводился

забор крови с последующей заморозкой для оценки специфических лабораторных показателей. На втором визите всем пациентам (n=87) проводился гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест. На третьем визите пациентам (n=87) проводилось УЗИ брюшной полости с последующей эластографией сдвиговой волны. Четвертый визит представлял собой консультацию эндокринолога с оценкой проведенных исследований, последующим направлением к гепатологу. Пятый визит – это консультация гепатолога перед проведением биопсии печени. Шестой визит - пункция печени под ультразвуковым контролем, часть материала каждого пациента была направлена для гистологического исследования (n=87) оставшаяся часть материала пациентов замораживалась (-80°C) (n=60) для дальнейшего проведения молекулярно-биологического исследования. Удалось получить пробы от 60 пациентов ввиду малого количества материала, полученного в результате биопсии. Седьмой визит представлял собой повторную консультацию гепатолога по результатам проведенного обследования (n=87). Далее были сформированы группы исследования – «нет НАЖБП», «стеатоз», «НАСГ».

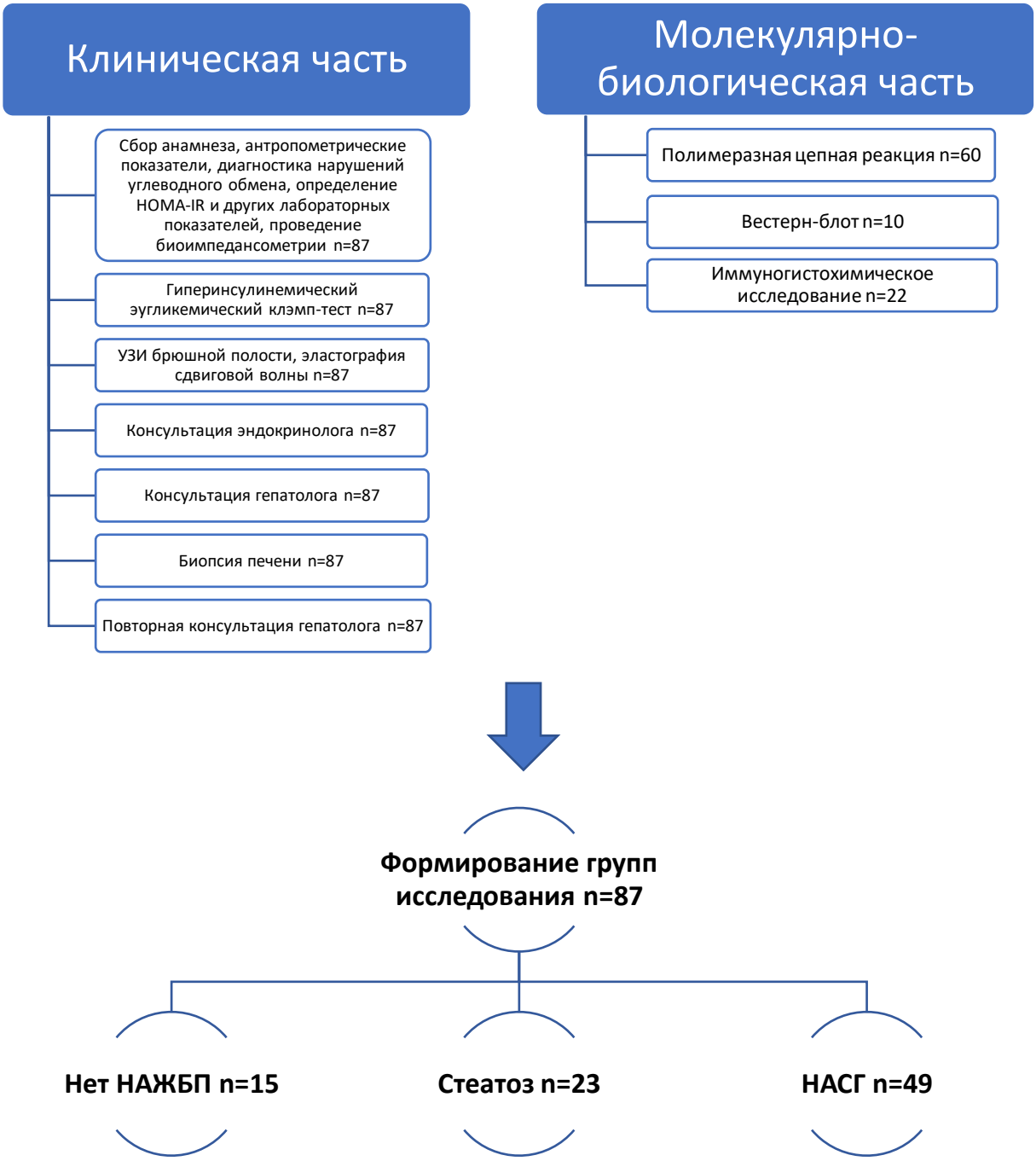


Рисунок 9. Дизайн исследования

Часть 1. Клиническая.

Набор пациентов проводился во время амбулаторных приёмов на базах следующих учреждений: ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России и ГБУЗ

МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского». Все лабораторные и инструментальные вмешательства проводились на указанных базах.

Часть 2. Молекулярно-биологическая.

Вторая часть исследования проведена на базе ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН (ПЦР в реальном времени, метод Вестерн-блот) и на базе отдела фундаментальной патоморфологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (зав. отделом д.м.н. Абросимов А.Ю.) (иммуногистохимическое исследование).

Для определения экспрессии фарнезоидного X рецептора (FXR) были запланированы 3 различные молекулярно-биологические методики: для определения относительной экспрессии NR1H4 (FXR) использовали ПЦР в реальном времени, анализ количества белка FXR проводили методом Вестерн-блот, а также проведен иммуногистохимический анализ экспрессии FXR.

При проведении биопсии печени (суммарное количество проб - 60) часть ткани была заморожена при температуре -80 °C для дальнейшего молекулярно-биологического анализа, а часть использовалась для приготовления парафиновых блоков с дальнейшим проведением иммуногистохимического исследования. Ввиду того, что парафиновые блоки биопсии печени содержат малое количество материала, а также используются для рутинного гистологического исследования, нами был получен материал для 22 пациентов из выборки.

Поскольку воспаление, сопровождающее прогрессию НАЖБП, может быть связано с сигналингом Толл-подобных рецепторов, проведено исследование экспрессии этих рецепторов, а также провоспалительных цитокинов в 60 пробах печени пациентов, которые

подверглись заморозке при температуре -80 °, методом ПЦР в реальном времени.

2.2 Методы исследования

2.2.1. Клиническая часть.

Всем пациентам проведен сбор анамнеза (длительность избыточной массы тела/ожирения, наличие сопутствующих заболеваний, получаемые медикаментозные препараты) и изучена полученная медицинская документация, на основании чего были исключены диагнозы СД1 и других специфических типов; онкологические заболевания; ОРВИ или обострение хронического заболевания в течение последнего месяца, тяжелые заболевания сердечно-сосудистой системы за последние 6 месяцев; исключены причины вторичного накопления жира в печени, наследственные заболевания печени; уточнена возможность беременности и ее планирования.

2.2.1.1. Определение антропометрических показателей

У всех пациентов проведено антропометрическое обследование (измерение роста, массы тела, расчет индекса массы тела, окружности талии и бедер, определено отношение окружности талии к окружности бедер).

1) Рост измеряли утром с помощью ростомера (Р-Сс-МСК МСК-233, ООО «Медстальконструкция», Россия).
2) Массу тела измеряли утром натощак во время биоимпедансометрии (анализатор InBody-770 (Inbody Co., LTD, Корея).
3) Расчет ИМТ производился по формуле отношения массы тела в килограммах к квадратному значению роста, выраженному в метрах (кг/м^2).

4) Измерение окружности талии (ОТ) проводили в средней точке между нижним краем последнего прощупываемого ребра и верхней частью гребня подвздошной кости с помощью сантиметровой ленты.

5) Измерение окружности бедер (ОБ) проводили путем обхвата сантиметровой лентой самой широкой части ягодиц.

6) Путем математического вычисления определено отношение ОТ к ОБ.

2.2.1.2. Определение лабораторных показателей

Комплекс запланированных лабораторных исследований проведен на базе лаборатории клинической биохимии и гормонального анализа ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией к.м.н. Никанкина Л.В.) и на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (зав. лабораторией д.м.н. Шатохина С.Н.). Определение ИР методом гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста проводилось на базе лаборатории клэмп-технологий отдела прогнозирования и инноваций Института диабета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. отделом д.м.н. Майоров А.Ю.).

- ***Определение показателей углеводного обмена***

Всем 87 больным проведено определение уровня гликированного гемоглобина и глюкозы (сыворотка), проведен пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) с 82,5 г моногидрата глюкозы, тест выполнен с соблюдением требований его проведения [3], для подтверждения/исключения СД. Данное исследование позволило разделить пациентов на группы – без нарушений углеводного обмена, предиабет (нарушенная гликемия натощак/нарушенная толерантность к глюкозе), СД2. На основании определения глюкозы и гликированного гемоглобина диагноз СД поставлен 30 пациентам, на основании проведения ПГТТ диагноз НТГ/НГН поставлен 26 пациентам, СД – 2

пациентам, отсутствие нарушений углеводного обмена выявлено у 28 пациентов.

1) Гликированный гемоглобин (референсные значения 4−6%) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе D10 (BioRad, США).

2) Анализ глюкозы сыворотки (референсные значения натощак 3,1−6,1 ммоль/л) проводился на биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Diagnostics, Abbotpark, IL, США) стандартными наборами фирмы.

3) Проведение перорального глюкозотолерантного тест (ПГТТ) с 82,5 г моногидрата глюкозы. Исследование проводилось утром натощак на фоне не менее чем 3-дневного неограниченного питания (более 150 г углеводов в сутки) и обычной физической активности. После забора крови натощак для определения глюкозы пациент не более чем за 5 мин выпивал 82,5 г моногидрата глюкозы, растворенных в 250 мл воды. Через 2 часа осуществлялся повторный забор крови для определения глюкозы. Кровь была центрифугирована сразу после взятия. Анализ глюкозы сыворотки проводился на биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Diagnostics, Abbotpark, IL, США) стандартными наборами фирмы.

Забор крови для определения вышеперечисленных лабораторных показателей проводился утром натощак из кубитальной вены.

- ***Определение других клинико-лабораторных показателей***

Клинико-лабораторные исследования включали оценку липидного спектра (уровни общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПВП), «печеночных» маркеров (АЛТ, АСТ, общий билирубин, щелочная фосфатаза, ГГТ), почечной функции (креатинин, с расчетом СКФ по EPI, мочевина), кальция, ферритина, общего белка, альбумина, мочевой кислоты. Гормональные исследования включали определение ТТГ, С-пептида, иммунореактивного инсулина (ИРИ). Также для оценки воспаления, наличия анемии, уровня тромбоцитов проводился

общеклинический анализ крови. Для исключения вирусных заболеваний печени проведено определение поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к антигенам вируса гепатита С.

Анализ биохимических показателей был выполнен на биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbott, США) стандартными наборами фирмы: общий холестерин, триглицериды, ЛПНП, ЛПВП, АЛТ, АСТ, билирубин общий, щелочная фосфатаза, ГГТ, креатинин (с расчетом скорости клубочковой фильтрации), мочевина, кальций общий, ферритин, общий белок, мочевая кислота. Референсные интервалы приведены в таблице 5.

Для оценки функционального состояния почек всем пациентам проводился расчет СКФ по формуле CKD-EPI (мл/мин/1,73 $м^2$) с использованием интернет-калькулятора на сайте http://www.mdrd.com.

Гормональные показатели: ИРИ, С-пептид, ТТГ определялись на электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas 6000 (Roche, Швейцария) стандартными наборами фирмы. Референсные интервалы приведены в таблице 6.

Общеклинический анализ крови производился на автоматическом анализаторе «Sysmex XE-2100 D» по стандартным методикам с использованием реагентов производителя. Референсные интервалы приведены в таблице 7.

Определение поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к антигенам вируса гепатита С выполнен на биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbott, США).

Забор крови для определения вышеперечисленных лабораторных показателей проводился утром натощак из кубитальной вены.

На основании полученных лабораторных данных исключен диагноз СД1, гипотиреоза, вирусного гепатита В и С.

Таблица 5. Референсные интервалы показателей биохимического анализа крови

Показатель	Референсный интервал
Глюкоза	3,1-6,1 ммоль/л
Креатинин	63-110 мкмоль/л
АСТ	5-34 ЕД/л
АЛТ	0-55 ЕД/л
Общий билирубин	3,4-20,5 мкмоль/л
ГГТ	12-64 ЕД/л
Щелочная фосфатаза	50-150 ЕД/л
Общий холестерин	3,3-5,2 ммоль/л
ЛПНП	1,1-3 ммоль/л
ЛПВП	0,9-2,6 ммоль/л
Триглицериды	0,1-1,7 ммоль/л
Мочевая кислота	202-416 мкмоль/л
Мочевина	3,2-7,4 ммоль/л
Общий белок	35-50 г/л
Альбумин	35-50 г/л
Кальций общий	2,15-2,55 ммоль/л

Таблица 6. Референсные интервалы показателей гормонального анализа крови

Показатель	Референсный интервал
ТТГ	0,25-3,5 мМЕ/л
С-пептид	1,1-4,4 нг/мл
ИРИ	2,3-26,4 мЕд/л

Таблица 7. Референсные интервалы показателей общего анализа крови

Показатель	Референсный интервал
Лейкоциты	3,9-10 10^9 кл/л
Эритроциты	4,3-5,8 10^12 кл/л
Гемоглобин	132-172 г/л
Тромбоциты	148-339 10^9 кл/л
СОЭ	2-15 мм/час

2.2.1.3. Определение инсулинорезистентности

ИР определялась двумя способами:

1) расчетным методом с использованием математической модели гомеостаза глюкозы HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance)

2) методом гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста, который является «золотым стандартом» определения ИР.

Расчет производился по математической модели гомеостаза глюкозы HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance) и в ходе гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста. Для определения индекса HOMA-IR использовалась следующая формула, разработанная D.Matthews [154]:

Индекс ИР = ИРИ0 (мкЕд/мл) × ГПН (ммоль/л) / 22,5,

Где ИРИ0 – иммунореактивный инсулин натощак,

ГПН – глюкоза плазмы натощак.

По данным литературы показатель HOMA-IR более 2,77 является отражением ИР.

Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест является «золотым стандартом» определения ИР. Исследование выполнялось утром, натощак. Во время исследования пациент принимал горизонтальное положение, в локтевые вены обеих рук устанавливались внутривенные катетеры: один из них для введения растворов (инсулин и глюкоза), второй – для забора крови и последующего измерения уровня глюкозы. Точность введения инсулина обеспечивалась шприцевым дозатором (Perfusor compact; B. Braun, Германия); инсулин вводилась с постоянной скоростью 40 мЕд/мин/м^2 площади поверхности тела или 1 мЕД/кг/мин для достижения гиперинсулинемии с целью подавления продукции глюкозы печенью и собственной секреции инсулина. Глюкоза вводилась в виде 20%-раствора, в дозе необходимой для стабилизации целевого уровня глюкозы плазмы 5,3 ± 0,3 ммоль/л, точность скорости введения обеспечивалась с помощью волюметрического дозатора (Infusomat fmS; B. Braun, Германия). Общая продолжительность исследования составляла 4-6 ч. После начала инфузии и тенденции к снижению уровня гликемии скорость введения глюкозы увеличивалась исследователем. Измерение уровня глюкозы плазмы и коррекция

введения глюкозы производилась каждые 5 минут с помощью глюкометра OneTouch VerioPro+ (LifeScan, США). Через 120-240 мин достигалось динамическое равновесие: скорость введения глюкозы равна скорости поглощения ее тканями. Таким образом, общее количество глюкозы, вводимое за последние 60-120 мин исследования в равновесном состоянии, характеризует индекс чувствительности к инсулину. После окончания исследования инфузию инсулина прекращали. Введение глюкозы продолжали в течение 30-40 мин с высокой скоростью для предотвращения гипогликемии в условиях подавленной продукции глюкозы печенью. Схема клэмп-теста представлена на рисунке 10.

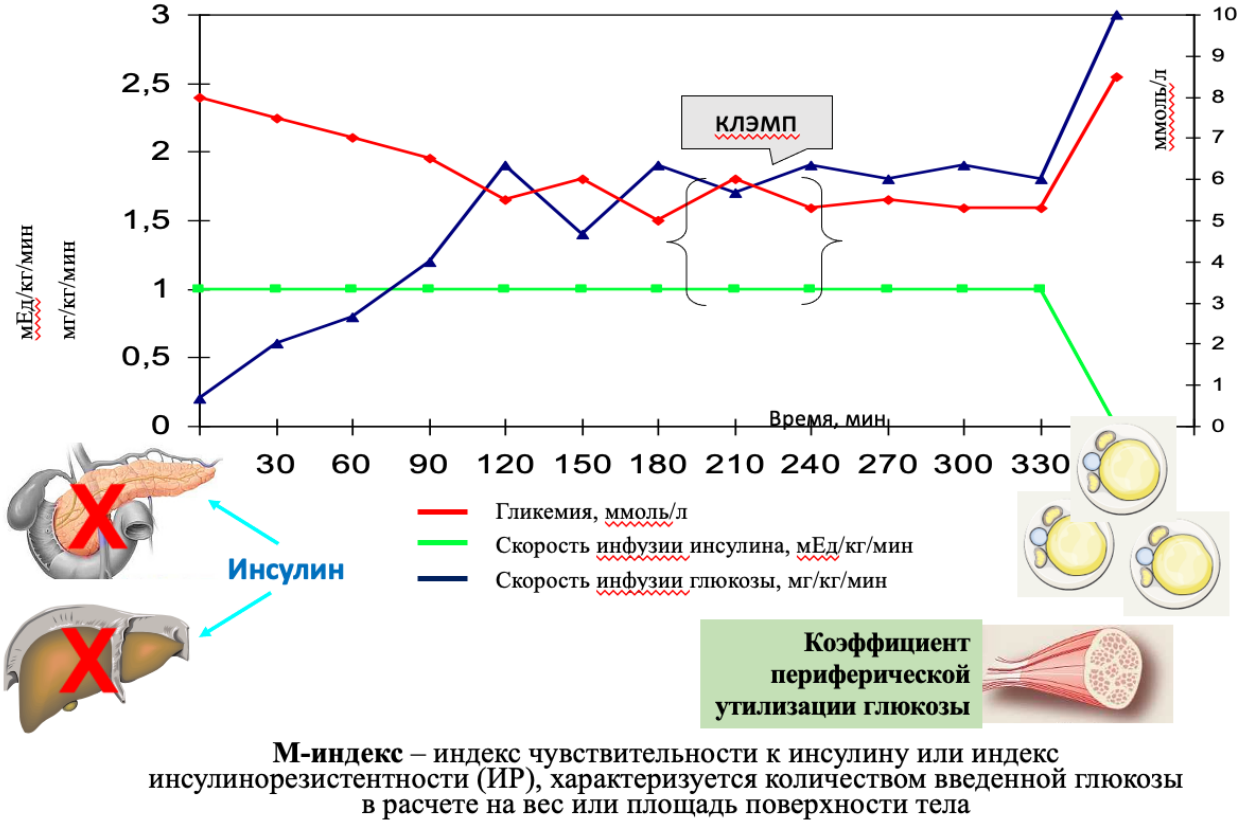


Рисунок 10. Схема проведения гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста [155]

В ходе проведения клэмп-теста был получен коэффициент утилизации (М-индекс), который является средним арифметическим из 6-8 дискретных значений скорости инфузии глюкозы в течение 30-40 минут равновесного состояния гликемии деленное на массу тела за 1 минуту.

Степени выраженности ИР в зависимости от М-индекса представлены в табл. 8 [156]

Таблица 8. Степени выраженности ИР в зависимости от М-индекса.

Степень выраженности	М-индекс
Тяжелая	≤2 мг/кг/мин
Средняя	2-4 мг/кг/мин
Легкая	4-6 мг/кг/мин
Нет ИР	>6 мг/кг/мин

2.2.1.4. Определение специфических показателей

Определение уровней FGF-21 (набор Human Fibroblast growth factor 21 (FGF-21) ELISA); фетуина А (набор Human Fetuin A ELISA); фетуина В (набор Human Fetuin B ELISA), бетатрофина (набор Betatrophin ELISA); ангиопоэтинподобного белка (RayBio (США), чувствительность 20 пг/мл); ретинол-связывающего белка 4 (Assaypro LLC, референс 20-35 мкг/мл); цитокератина-18 (набор Human Cytokeratin 18-M30, CK 18-M30 ELISA)- Cusabio (Китай); человеческого гепассоцина (фибриноген-подобного белка-1) (набор Human Hepassocin/HFREP-1 ELISA) - RayBio, чувствительность 3,1 нг/мл); Fas-лигандА (набор Human sFas ligand ELISA) - affymetrix eBioscince (Австрия), чувствительность 0,07 нг/мл); N-терминального пропептида проколлагена III (набор Procollagen III N-terminal propeptide (PIIINP) ELISA) - Cloud-Clone, чувствительность 2,14 нг/мл); гиалуроновой кислоты (набор Hyaluronic Acid ELISA)-corgenix (США), чувствительность 50 нг/мл); адипоцитарного протеина, связывающего свободные жирные кислоты (FABP 4) (набор Fatty Acid Binding Protein 4 Adipocyte ELISA) - BioVendor (Чехия), чувствительность 9,08 нг/мл); адипонектина (набор Human Adiponectin, ADP ELISA)-BioVendor (Чехия), чувствительность 26 нг/мл); резистин (набор Resistin ELISA) - BioVendor (Чехия), чувствительность 0,012 нг/мл); висфатина

(набор Human Visfatin ELISA) - RayBiotech, чувствительность 0,778 нг/мл); лептина (набор Human Leptin ELISA) Diagnostics Biochem Canada, чувствительность 0,5 нг/мл) [44].

Забор крови для определения вышеперечисленных лабораторных показателей проводился утром натощак из кубитальной вены.

Образцы полученной крови центрифугировались (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов) однократно в течение 15 минут с частотой 3000 оборотов в минуту, после чего отделенная пипетатором плазма распределялась в эппендорфы объемом по 0,5 мл с последующим замораживанием при температуре минус 80 °С до периода окончания сбора материала.

2.2.1.5. Определение композиционного состава тела

Для оценки количества подкожного и висцерального жира всем больным проведена биоимпедансометрия. Исследование проводилось натощак: пациент вставал босиком на блок анализатора InBody-770 (Inbody Co., LTD, Корея); исследователь вводил информацию о пациенте (возраст, пол, рост); после того, как оценивалась масса тела, пациент брал ручки анализатора в обе руки. Полный анализ проводился менее чем за 20 сек. В качестве оценки количества висцеральной жировой ткани анализатор применял висцеральный индекс (от 1-го до 55-го уровня). Один уровень соответствует 10 см^2 висцеральной жировой ткани на уровне межпозвоночного диска L4−L5 [157]. Общее количество жира в организме отражено в процентном соотношении к общей массе тела.

2.2.1.6. Ультразвуковая диагностика

Транзиентная эластография и эластография сдвиговой волны являются неинвазивными методами оценки фиброза печени при хронических заболеваниях печени. В своем исследовании мы использовали методику эластографии сдвиговой волны. Ультразвуковое исследование брюшной полости для оценки размеров печени и структурных изменений печени и эластография сдвиговой волны печени

для оценки ее упругости проводились на базе отделения ультразвуковой диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. отделением к.м.н. Солдатова Т.В.). Ультразвуковое исследование проводилось на аппарате Voluson E8 (GE, США), эластография сдвиговой волны - на аппарате Super Sonic Imagine's Aixplorer® (SuperSonicImagine, Франция). Осмотр выполняется в зоне 6-7 сегментов печени, датчик в положении по средне-подмышечной или передне-подмышечной линии с возможностью перемещения вдоль 7-10 межреберья и ротации для оптимизации окна визуализации, так как диагностическая точность эластографии сдвиговой волны печени зависит от качества визуализации эхо-окна в В-режиме. Ориентировочная глубина зоны интереса 5-6 см., с учетом адекватного эхо-окна без ограничений и артефактов. За окончательный результат принимают среднее значение при проведении не менее 3-х измерений [158]. Соответствие значений эластичности, полученных при проведении эластографии сдвиговой волны, стадии фиброза представлены в таблице 9. (данные Castera) [159].

Таблица 9. Значения эластичности печени при различных стадиях ее фиброза.

Стадия фиброза (Metavir)	**Значения эластичности, кПа**
F0	1,5 – 5,8
F1	5,9 – 7,2
F2	7,3 – 9,5
F3	9,6 – 12,5
F4	>12,6

2.2.1.7. Оценка наличия и стадии неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП)

Чрескожная пункционная биопсия под непрерывным ультразвуковым контролем с использованием допплерографических методов с дальнейшим гистологическим исследованием биоптата печени проводилась на базе отделения гепатологии КДО ГБУЗ МО «Московский

областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (зав. отделением к.м.н. Богомолов П.О.).

Всем больным выполнена чрескожная пункционная биопсия под непрерывным ультразвуковым контролем с использованием допплерографических методов с дальнейшим гистологическим исследованием биоптата печени. Пункционная биопсия печени выполнялась стандартным набором инструментов одноразового применения с использованием пункционной иглы “Hepafix” (типа Menghini) диаметром 1,4-1,6 мм. Манипуляция выполнялась в стандартном положении больного лежа на спине с наклоном влево. Место пункции выбирали с помощью перкуссии и ультразвукового сканирования. Место прокола локализовалось в 8-9 межреберье справа по среднеподмышечной линии. Перед пункцией печени проводилась местная инфильтрационная анестезия 0,5% раствором новокаина или 2% раствором лидокаина. Полученный материал фиксировался в стандартном забуфференном растворе 10% формалина по методу Лилли и направлялся на гистологическое исследование. После процедуры больному в течение 4 часов предписывался строгий постельный режим, на область пункции накладывался пузырь со льдом на 2 часа, через 6 часов контролировались показатели гемограммы: гемоглобин, гематокрит, содержание эритроцитов.

Гистологическое исследование биоптата печени. Материал, полученный в результате пункционной биопсии печени, заливался в парафин. С каждого блока приготовлялось 25-30 срезов, смонтированных на нескольких стеклах по группам. Окрашивание материала проводилось гематоксилин-эозином и пикрофуксином по методу ван Гизона. После приготовления серии микропрепаратов печеночной паренхимы проводили гистологический анализ с помощью светового микроскопа Primo Star (Carl Zeiss). Оценивались структурные изменения ткани: индекс гистологической активности (ИГА), индекс фиброза, а также

наличие и степень выраженности стеатоза гепатоцитов. Вычисление ИГА проводилось полуколичественным методом с использованием балльной шкалы Knodell (1981г.), согласно которой оценивается выраженность трех основных характеристик – некроза, клеточной дистрофии и воспалительной инфильтрации (табл. 10). Этот метод ранговой оценки степени выраженности воспаления, некроза и фиброза печени, известный сегодня как ИГА стеатогепатита.

Таблица 10. Полуколичественный анализ определения индекса гистологической активности по шкале Knodell.

I. Перипортальные и мостовидные некрозы гепатоцитов	**Баллы**
а) отсутствуют	0
б) слабо выраженные ступенчатые некрозы	1
в) умеренные ступенчатые некрозы (до 50% портальных трактов)	3
г) выраженные ступенчатые некрозы (свыше 50% портальных трактов)	4
д) умеренные ступенчатые + мостовидные некрозы	5
е) выраженные ступенчатые + мостовидные некрозы	6
II. Внутридольковая дегенерация и очаговые некрозы	**Баллы**
а) отсутствуют	0
б) слабые (ацидофильные тельца, баллонная дегенерация, фокусы гепатоцеллюлярного некроза в 33% долек)	1
в) умеренные (вовлечены 33 - 66% долек)	3
г) выраженные (вовлечены более 66% долек)	4
III. Портальное воспаление	**Баллы**
а) отсутствует	0
б) слабое (клетки воспалительного инфильтрата присутствуют менее чем в 33% портальных трактов)	1
в) умеренное (воспалительная инфильтрация в 33 - 66% портальных трактов)	3
г) выраженное (обильная воспалительная инфильтрация более чем в 66% портальных трактов)	4

IV. Фиброз	Баллы
а) отсутствует	0
б) фиброз портальных трактов	1
в) мостовидный фиброз (порто-портальный или порто-центральный)	3
г) цирроз	4

Степень активности стеатогепатита отражают первые три компонента (выраженность перипортального и/или мостовидного некроза печеночных долек, некроз долей печени и портальное воспаление), четвертый - стадию процесса. ИГА, равный 0 баллов, свидетельствует об отсутствии воспаления; 1 - 3 балла соответствуют минимальной активности патологического процесса; 4 - 8 - слабовыраженной; 9 - 12 - умеренной и 13 - 18 - значительной выраженной активности процесса.

Оценка индекса фиброза проводилась по методу K.G. Ishak (1994 г.) (табл. 11).

Таблица 11. Оценка фиброза по шкале Ishak

Морфологические изменения	Индекс
Фиброза нет	0
Распространение фиброза на некоторые портальные тракты ± короткие фиброзные септы	1
Распространение фиброза на большинство портальных трактов ± короткие фиброзные септы	2
Распространение фиброза на большинство портальных трактов и единичные портопортальные септы	3
Распространение фиброза на портальные тракты с множественными портопортальными и портоцентральными септами	4
Выраженный мостовидный фиброз с единичными узлами (неполный цирроз)	5
Вероятный или определенный цирроз	6

Также оценка фиброза проводилась по шкале Metavir (1993г., P.Bedossa) (табл.12). Metavir — это аббревиатура от «метаанализ гистологических данных при вирусном гепатите», изначально определялся у пациентов с вирусным гепатитом С.

Таблица 12. Степени фиброза по шкале Metavir

Описание	**Название**
Отсутствие фиброза	F0
Фиброз (звездчатое расширение портальных трактов, без образования септ)	F1
Фиброз с единичными септами	F2
Фиброз с множественными септами без цирроза	F3
Фиброз с множественными септами с циррозом	F4

При наличии жировых вакуолей в гепатоците, занимающих более 5% площади клетки, был диагностирован стеатоз гепатоцитов (стеатоз по Brunt, выражается в процентах) [160]. Выделены следующие степени стеатоза: S0 – стеатоз менее 10%, S1 – стеатоз более 10%, S2 – стеатоз более 33%, S3 – стеатоз более 66% гепатоцитов.

Для определения степени поражения печени использовалась классификация NAS (NAFLD activity score) (2005 г.), позволяет оценить степень морфологических изменений в баллах (от 0 до 8): выраженность стеатоза печени, внутридолькового (лобулярного) воспаления, баллонной дистрофии гепатоцитов и стадию фиброза.

2.2.2. Молекулярно-биологическая часть.

При проведении биопсии печени (ввиду малого количества материала, полученного при проведении биопсии печени суммарное количество проб составило 60) часть ткани была заморожена при температуре -80 °С для дальнейшего молекулярно-биологического анализа. Образцы замороженной ткани печени были использованы для выделения РНК и белков с разделением ядерной и цитоплазматической фракции.

Тотальную РНК из ткани печени выделяли с использованием реагента ExtractRNA (Евроген, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Реакция обратной транскрипции проводилась с использованием 2 мкг суммарной РНК и набора MMLV RT (Евроген, Россия).

Количественный ПЦР-анализ проводили на приборе Applied Biosystems 7500 с использованием набора qPCRmix-HS SYBR + LowROX (Евроген, Россия).

Для определения относительной экспрессии NR1H4 (FXR) использовали ПЦР в реальном времени в соответствии со следующим протоколом: нагревание до 95 °С (10 мин.), 40 циклов амплификации: 95 ° С – 20 сек., 60 ° С – 20 сек. и 72 ° С – 20 сек., финальная элонгация при 72 °С в течение 10 минут. Относительную экспрессию NR1H4 (FXR) определяли с использованием метода ΔΔCt и нормировали на уровень экспрессии эндогенного контроля (мРНК β-актина) в соответствующей пробе. Кривые плавления были использованы для оценки качества финального ПЦР-продукта. Сиквенсы олигонуклеотидных праймеров для амплификации гена NR1H4 (FXR) и β-актина были следующими:

NR1H4_Fwd: ACTCACCCCAGATCAACAGAC

NR1H4_Rev: TGGTTGCCATTTCCGTCAAA

ActB_Fwd: ACTGGGACGACATGGAGAAA

ActB_Rev: GGCGTACAGGGATAGCACAG

Выделение белков ядерной и цитоплазматической фракции из ткани печени было выполнено согласно протоколу для фракционирования клеточных компартментов. Образец печени тщательно измельчали пестиком в 1.5 мл пробирке с использованием жидкого азота, два раза промывали холодным PBS и добавляли 300 мкл буфера A (10 мМ HEPES, pH7.9, 10 мМ MgCl2, 0.5 мМ DTT, ингибиторы протеаз), инкубировали на льду 10 минут и добавляли Triton X-100 до финальной концентрации 0.3%. Центрифугировали лизат при 40C, 12000 g, 10 мин.; осадок, содержащий ядерную фракцию, растворяли в 60 мкл буфера C (20 мМ HEPES, pH7.9, 25% глицерин, 0.42 мМ NaCl, 1.5 мМ MgCl2, 0.5 мМ DTT, 0.2 мМ EDTA, ингибиторы протеаз), инкубировали на льду 30 минут и центрифугировали. К супернатанту, содержащему цитоплазматическую фракцию, добавляли 110 мкл буфера B (0.3 мМ HEPES, pH7.9, 1.4 M KCl, 30 мМ MgCl2), инкубировали на льду 30 минут и центрифугировали. Концентрацию белка измеряли по методу Бредфорда (Bradford Assay Kit, Thermo Scientific).

Анализ количества белка FXR проводили методом Вестерн-блот с использованием анти-FXR антител (PA5-30951, Thermo Scientific). Лизат разделяли методом белкового электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Полученный гель подвергали электроблоттингу на нитроцеллюлозную мембрану. Для визуализации белков использовали раствор Понсо S. Блокировали неспецифическое связывание антител при помощи 5% раствора обезжиренного молока, проводили гибридизацию с раствором анти-FXR антител (PA5-30951, Thermo Scientific), в качестве контроля нанесения использовали антитела против кофилина (ab124979, Abcam) и против ламина B1 (ab133741, Abcam) в 5% молоке в течение ночи. В качестве вторичных антител использовали антитела против IgG кролика, меченые HRP. Визуализацию иммунохимического сигнала проводили при помощи метода ECL (Enhanced ChemiLuminescence) с использованием набора SuperSignal

West Dura Extended Duration Substrate (Thermo Scientific). Хемилюминесценцию документировали при помощи рентгеновской пленки Kodak MXB Film.

Иммуногистохимический анализ экспрессии FXR был проведен на приборе Leica Bond Autostainer (Германия) с использованием антител против FXR (sc-13063, Santa Cruz) и системы визуализации на основе полимера Leica Bond. Из парафиновых блоков подготавливались серийные срезы толщиной 3–4 мкм, которые помещались на полилизиновые стекла (Leica, Германия), которые были инкубированы в термостате при температуре 37°C в течение12 часов. Далее срезы последовательно депарафинизировались. Затем препараты окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Для полуколичественной оценки экспрессии некоторых представителей Толл-подобных рецепторов (TLR (TLR2-4)), а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в пробах биопсий печени пациентов (24 пробы) с различными стадиями НАЖБП проведен ПЦР в реальном времени с параметрами программы, аналогичными таковым для анализа экспрессии NR1H4: нагревание до 95°C (10 мин.), 40 циклов амплификации: 95°C – 20 сек., 60° C – 20 сек. и 72° C – 20 сек., финальная элонгация при 72°C в течение 10 минут. Относительную экспрессию TLR2-4 определяли с использованием метода ΔΔCt и нормализована на уровень экспрессии β-актина. Сиквенсы олигонуклеотидных праймеров для амплификации были следующими:

TLR2-Fwd GAAAGCTCCCAGCAGGAACATC

TLR2-Rev GAATGAAGTCCCGCTTATGAAGACA

TLR3-Fwd GGACTTTGAGGCGGGTGTT

TLR3-Rev TGTTGAACTGCATGATGTACCTTGA

TLR4-Fwd TGCGTGGAGGTGGTTCCTA

TLR4-Rev GGCTCTGATATGCCCCATCT

TNF-Fwd CTGCACTTTGGAGTGATCGG

TNF-Rev TGAGGGTTTGCTACAACATGG

IL6-Fwd AACAACCTGAACCTTCCA

IL6-Rev GCTTGTTCCTCACTACTCTC

2.3. Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (выписка из протокола №11 от 14 октября 2015г.). Все пациенты, включенные в исследование, подписывали информированное согласие.

2.4. Статистический анализ

Статистический анализ проведен в программном пакете Statistica 13 (Tibco, США).

Описательная статистика количественных данных представлена медианами, первым и третьим квартилями в виде Me [Q1; Q3], качественных в виде абсолютных и относительных частот.

Сравнение двух независимых групп для количественных данных выполнялось с помощью критерия Манна-Уитни (U-тест), трех и более групп с помощью критерия Краскела- Уоллиса с дальнейшим post-hoc анализом. Частоты качественных признаков сравнивались между собой с помощью критерия χ 2 и двустороннего точного критерия Фишера.

Корреляционный анализ выполнялся с помощью метода корреляции Спирмена.

Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез принят равным 0,05. При множественных сравнениях применялась поправка Бонферрони путем коррекции критического уровня значимости. Значения между новым критическим уровнем значимости и 0,05 интерпретировались, как статистическая тенденция.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Клиническая характеристика исследуемых пациентов

3.1.1 Анализ антропометрических параметров исследуемых

Всего в исследование было включено 87 человек: 15 (17%) пациентов без НАЖБП, 23 (26%) пациентов со стеатозом, 49 (56%) пациентов с НАСГ.

Три группы пациентов были сопоставимы по основным антропометрическим характеристикам.

В таблице 13 отражены результаты сравнительного анализа групп пациентов, включенных в исследование, по демографическим и антропометрическим характеристикам.

Таблица 13. Сравнительный анализ участников исследования по демографическим и антропометрическим параметрам (n=87).

Признак	***Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)***	***Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)***	***НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)***	***p, критерий Краскела-Уоллиса***	***p, post-hoc***
Пол (М/Ж)	8 (53%)/ 7 (47%)	17 (74%)/ 6 (26%)	20 (41%)/ 29 (59%)	0,032	p_{1-2} =0,573 p_{1-3} =1,000 p_{2-3} =0,026
Возраст, лет	52 [37; 55]	45 [43; 53]	49 [42; 56]	0,724	
Масса тела (кг)	104,9 [90; 110]	98 [89,6; 106,4]	96 [88; 109]	0,701	
ИМТ (кг/м^2)	33,4 [31,5; 35,5]	32,3 [30,4; 34,6]	34,8 [31,6; 38]	0,290	
ОТ (см)	110 [104; 110]	107 [102; 112]	108 [103; 112]	0,590	
ОБ (см)	110 [108; 113]	106 [105; 115]	111 [106; 117]	0,303	
ОТ/ОБ	0,97 [0,91; 1,00]	0,96 [0,94; 1,02]	0,96 [0,94; 1,01]	0,674	

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/53=0,001

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; М - мужчины; Ж – женщины; ИМТ – индекс массы тела; ОТ – окружность талии; ОБ – окружность бедер; ОТ/ОБ – отношение объема талии к объему бедер.

При оценке индекса массы тела пациентов, входящих в группы, они были разделены на три группы: избыточная масса тела, ожирение 1 и 2

степени, морбидное ожирение. Распределение пациентов по группам представлено в табл. 14.

Таблица 14. Абсолютная и относительная частота увеличения ИМТ у пациентов.

Признак		**Все пациенты (n=87) n (%)**	**Без НАЖБП (n=15) n (%)**	**Стеатоз (n=23) n (%)**	**НАСГ (n=49) n (%)**
ИМТ	*Избыточная масса тела*	12 (14%)	0 (0%)	5 (22%)	7 (15%)
	Ожирение 1 и 2 ст.	62 (71%)	12 (80%)	15 (65%)	29 (59%)
	Морбидное ожирение	13 (15%)	3 (20%)	3 (13%)	13 (26%)

Примечания:
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; ИМТ – индекс массы тела

3.1.2. Особенности биохимических показателей

При анализе биохимических показателей воспаления: АЛТ повышена у 4 (27%) пациентов в группе без НАЖБП, у 6 (26%) в группе стеатоза, у 26 (53%) в группе НАСГ; АСТ повышена у 5 (33%) пациентов в группе без НАЖБП, у 6 (26%) в группе стеатоза, у 26 (53%) в группе НАСГ. Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ) повышена у 4 (27%) пациентов в группе без НАЖБП, у 11 (48%) в группе стеатоза, у 19 (39%) в группе НАСГ; щелочная фосфатаза повышена у 2 (13%) пациентов в группе без НАЖБП, у 7 (30%) в группе стеатоза, у 4 (8%) в группе НАСГ; общий билирубин повышен у 7 (47%) пациентов в группе без НАЖБП, у 4 (17%) в группе стеатоза, у 3 (6%) в группе НАСГ. Гиперферритинемия регистрировалась у 4 (27%) пациентов в группе без НАЖБП, у 7 (30%) в группе стеатоза, у 17 (35%) в группе НАСГ, при дополнительном анализе показателей обмена железа и генетическом исследовании был исключен наследственный гемохроматоз.

При оценке липидного спектра выявлены следующие изменения: общий холестерин повышен у 13 (87%) пациентов в группе без НАЖБП, у 16 (70%) в группе стеатоза, у 33 (67%) в группе НАСГ; триглицериды

повышены у 4 (27%) пациентов в группе без НАЖБП, у 15 (65%) в группе стеатоза, у 28 (57%) в группе НАСГ; ЛПВП в пределах референсного интервала/выше референсного интервала у всех пациентов в группе без НАЖБП, у 4 человек (17%) снижен уровень ЛПВП в группе пациентов стеатоза, у 12 человек (24%) снижен уровень ЛПВП в группе НАСГ.

При оценке пуринового обмена выявлены следующие изменения: мочевая кислота повышена у 4 (27%) пациентов в группе без НАЖБП, у 5 (22%) в группе стеатоза, у 17 (35%) в группе НАСГ.

При оценке почечной функции, кальциевого обмена, признаков воспаления (общий анализ крови), функции щитовидной железы значимых изменений выявлено не было.

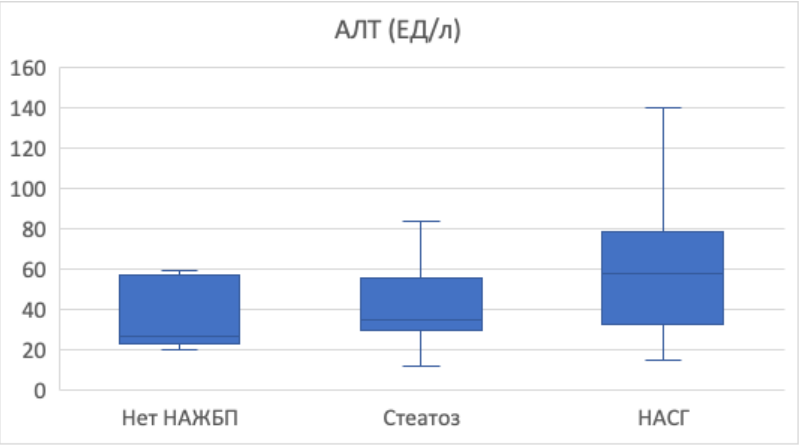
С учетом поправки Бонферрони различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по следующим показателям: АСТ – показатель выше в группе пациентов с НАСГ, чем в группе пациентов со стеатозом (рис. 11); АЛТ – показатель выше в группе пациентов с НАСГ, чем в группе пациентов с отсутствием НАЖБП (рис. 12); общий холестерин – показатель ниже в группе пациентов с НАСГ, чем в группе пациентов со стеатозом (рис. 13); триглицериды – показатель выше в группе пациентов со стеатозом, чем в группе пациентов с отсутствием НАЖБП (рис. 14); альбумин – показатель выше в группе пациентов с НАСГ, чем в группе пациентов с отсутствием НАЖБП (табл. 15).

Таблица 15. Сравнительный анализ групп пациентов НАЖБП, стеатозом и НАСГ (n=87)

Признак	**Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)**	**Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)**	**НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)**	**p, критерий Краскела-Уоллиса**	**p, post-hoc**
АСТ (ЕД/л)	26 [23; 71]	28 [22; 35]	41 [26; 52]	0,040	p_{1-2}=0,862 p_{1-3}=1,000 p_{2-3}=0,036

АЛТ (ЕД/л)	27 [23; 57]	35 [30; 56]	58 [33; 78]	0,016	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,028 p_{2-3}=0,163
ЩФ (ЕД/л)	97 [39; 112]	120 [71; 167]	90 [66; 125]	0,284	-
ГГТ (ЕД/л)	44 [34; 80]	45 [28; 80]	51 [41; 71]	0,679	-
Общий билирубин (мкмоль/л)	15,3 [10,9; 25,6]	13,6 [9,7; 18,1]	12,05 [9,9; 13,55]	0,098	-
Ферритин (мкг/л)	112,9 [87,9; 176,9]	139,3 [77,4; 187,1]	128,0 [69,7; 224,7]	0,923	-
Лейкоциты (10^9 кл/л)	6,46 [5,44; 7,02]	6,79 [5,65; 7,82]	6,68 [5,70; 7,77]	0,361	-
СОЭ (мм/час)	15 [4; 17]	14 [10; 18]	13 [10; 20]	0,692	-
Гемоглобин (г/л)	134 [130; 149]	144 [139; 153]	140 [132; 149]	0,197	-
Тромбоциты (10^9 кл/л)	256 [223; 288]	235 [214; 276]	258 [237; 307]	0,054	-
Креатинин (мкмоль/л)	69,4 [66,1; 72,6]	75,6 [67,9; 87,7]	69,5 [62,7; 78,9]	0,330	-
СКФ по EPI (мл/мин/1,73м^2)	101 [92; 102]	103 [89; 108]	99 [91; 105]	0,753	-
Мочевина (ммоль/л)	5 [3,3; 5,1]	4,9 [4,3; 5,7]	4,8 [3,9; 5,3]	0,580	-
Мочевая к-та (мкмоль/л)	353,7 [277,7; 432,5]	374,3 [328,6; 411,1]	391,7 [319,5; 425,3]	0,686	-
Общий белок (г/л)	74 [68; 76]	73 [69; 78]	73 [68; 76]	0,409	-
Кальций общ (ммоль/л)	2,33 [2,25; 2,39]	2,32 [2,25; 2,38]	2,31 [2,25; 2,36]	0,712	-
Альбумин (г/л)	43 [40; 45]	44 [39; 47]	46 [41; 48]	0,036	p_{1-2}=0,861 p_{1-3}=0,044 p_{2-3}=0,441
ТТГ (мМЕ/л)	0,9 [0,8; 2,6]	1,5 [0,9; 1,9]	1,5 [1,2; 2,1]	0,076	-
Общ холестерин (ммоль/л)	6,23 [5,24; 6,45]	6,66 [5,18; 6,9]	5,55 [4,93; 5,99]	0,020	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,198 p_{2-3}=0,034
ЛПНП (ммоль/л)	3,9 [3,51; 4,752]	3,82 [3,14; 4,8]	3,6 [2,824; 4,04]	0,051	-
ЛПВП (ммоль/л)	1,165 [0,94; 1,6]	1,1 [0,9; 1,3]	1,11 [0,9; 1,3]	0,347	-
ТГ (ммоль/л)	1,52 [1,09; 1,71]	2,13 [1,38; 3,2]	1,74 [1,39; 2,44]	0,031	p_{1-2}=0,026 p_{1-3}=0,145 p_{2-3}=0,763

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001

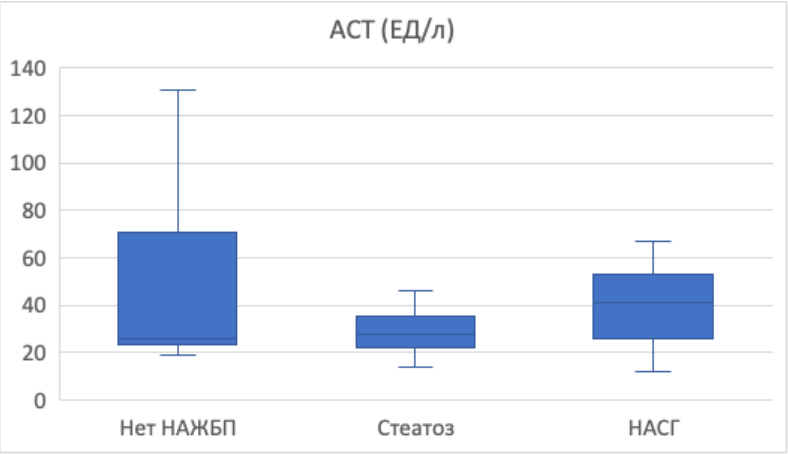


p=0,016
P_0=0,001

Рисунок 11. Сравнительный анализ групп пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ по показателю АЛТ (n=87)

Примечания:

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

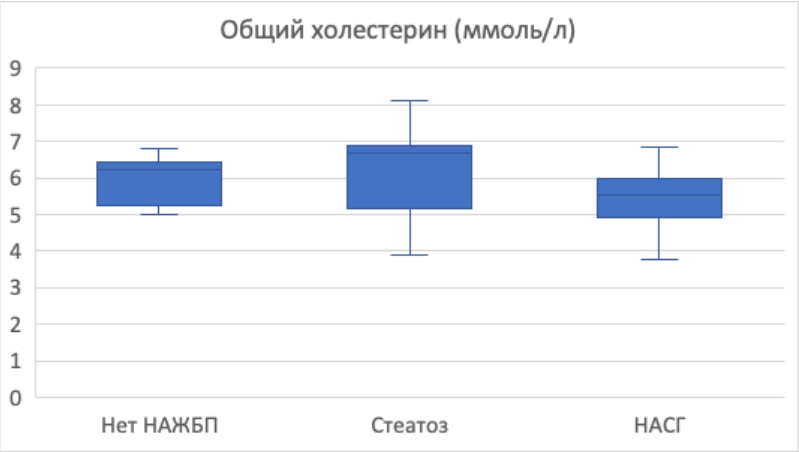


p=0,040
P_0=0,001

Рисунок 12. Сравнительный анализ групп пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ по показателю АСТ (n=87)

Примечания:

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

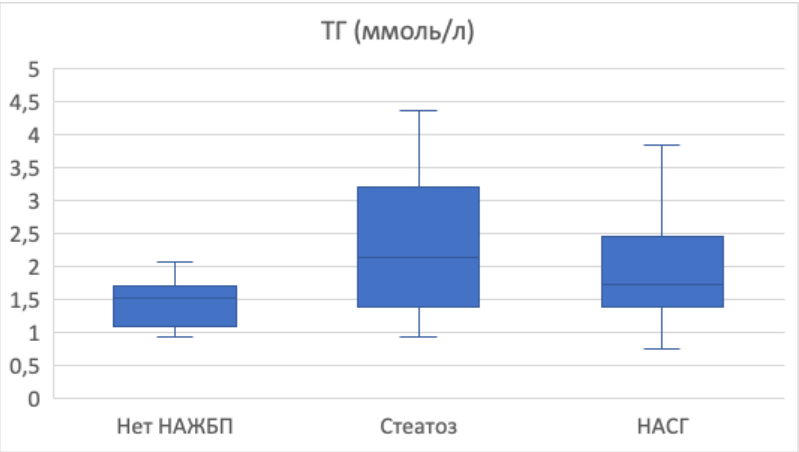


p=0,020
P_0=0,001

Рисунок 13. Сравнительный анализ групп пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ по показателю общего холестерина (n=87)

Примечания:

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит



p=0,031
P_0=0,001

Рисунок 14. Сравнительный анализ групп пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ по показателю триглицеридов (n=87)

Примечания:

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

3.2 Результаты проведенных исследований

3.2.1 Анализ углеводного обмена и инсулинорезистентности

У пациентов без НАЖБП у 7 (47%) не диагностировано нарушений углеводного обмена, у 6 (40%) диагностирован предиабет, у 2 (13%) – СД2; у пациентов со стеатозом у 9 (39%) не диагностировано нарушений углеводного обмена, у 6 (26%) диагностирован предиабет, у 8 (35%) – СД2; у пациентов с НАСГ у 12 (24%) не диагностировано нарушений углеводного обмена, у 14 (29%) диагностирован предиабет, у 23 (47%) – СД2.

Таблица 16. Сравнительный анализ групп пациентов со стеатозом, НАСГ и без НАЖБП по параметрам углеводного обмена и инсулинсекретирующей функции поджелудочной железы (n=87).

Признак	**Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)**	**Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)**	**НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)**	**p, критерий Краскела-Уоллиса**	**p, post-hoc**
С-пептид (нг/мл)	2,76 [2,66; 3,81]	3,32 [3,04; 3,85]	4,17 [3,08; 5,19]	0,023	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,035 p_{2-3}=0,253
ИРИ (мкЕД/мл)	14,16 [10,11; 21,01]	12,31 [10,58; 15,95]	22,97 [17,29; 31,68]	**<0,001**	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=**0,014** p_{2-3}<**0,001**
Глюкоза (ммоль/л)	5,24 [4,58; 5,88]	6,14 [5,27; 9,11]	5,77 [5,19; 8,22]	0,087	-
Гликированный гемоглобин (%)	5,6 [5,1; 5,9]	5,7 [5,3; 8,5]	6,1 [5,5; 7,1]	0,120	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/53=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; ИРИ – иммунореактивный инсулин.

С учетом поправки Бонферрони статистические значимые различия наблюдаются по уровню иммунореактивного инсулина (ИРИ) – в группе пациентов с НАСГ статистически значимо выше показатель ИРИ, чем в группе пациентов со стеатозом и в группе с отсутствием НАЖБП.

Различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по уровню С-пептида – в группе пациентов с НАСГ выше показатель С-пептида, чем в группе пациентов с отсутствием НАЖБП (табл. 16).

При оценке степени ИР методом гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста у 29 человек выявлена тяжелая степень ИР, у 39 человек – средняя, у 12 – легкая степень, у 7 человек не выявлено ИР. В трех исследуемых группах медиана М-индекса соответствовала средней степени (в группе пациентов со стеатозом и в группе с НАСГ) и легкой степени (в группе без НАЖБП). С учетом поправки Бонферрони статистические значимые различия наблюдаются по М-индексу – в группе пациентов с отсутствием НАЖБП статистически значимо выше показатель М-индекса, чем в группах пациентов со стеатозом и НАСГ. Однако значимых различий в группе пациентов со стеатозом и в группе пациентов с НАСГ обнаружено не было.

С учетом поправки Бонферрони статистические значимые различия наблюдаются по данным математической модели гомеостаза глюкозы HOMA-IR – в группе пациентов с НАСГ статистически значимо выше показатель HOMA-IR, чем в группе пациентов со стеатозом и отсутствием НАЖБП.

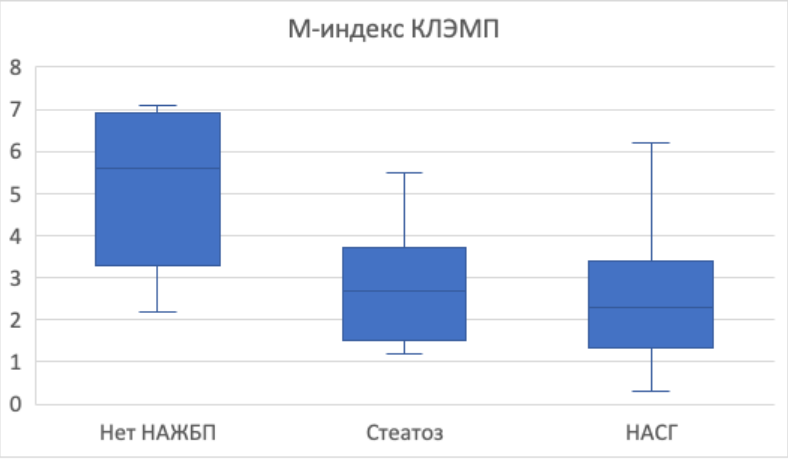
Учитывая полученные данные, можно сделать вывод, что ИР выявлена во всех исследуемых группах, как по данным гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста, так и по данным математической модели гомеостаза глюкозы HOMA-IR (показатели более 2,77). Выявлены статистически значимые различия по ИР в группе без НАЖБП по сравнению с НАСГ и со стетозом (табл.17).

Таблица 17. Сравнительный анализ групп пациентов со стеатозом, НАСГ и без НАЖБП по параметрам инсулинорезистентности (n=87).

Признак	**Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)**	**Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)**	**НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)**	**p, критерий Краскела-Уоллиса**	**p, post-hoc**
М-индекс (мг/кг/мин)	5,6 [3,3; 6,9]	2,7 [1,5; 3,7]	2,3 [1,4; 3,4]	**<0,001**	p_{1-2}=**0,018** p_{1-3}<**0,001** p_{2-3}=0,895
HOMA-IR	3,5 [2,38; 4,24]	3,4 [2,64; 4,98]	8 [4,25; 11,62]	**<0,001**	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=**0,001** p_{2-3}<**0,001**

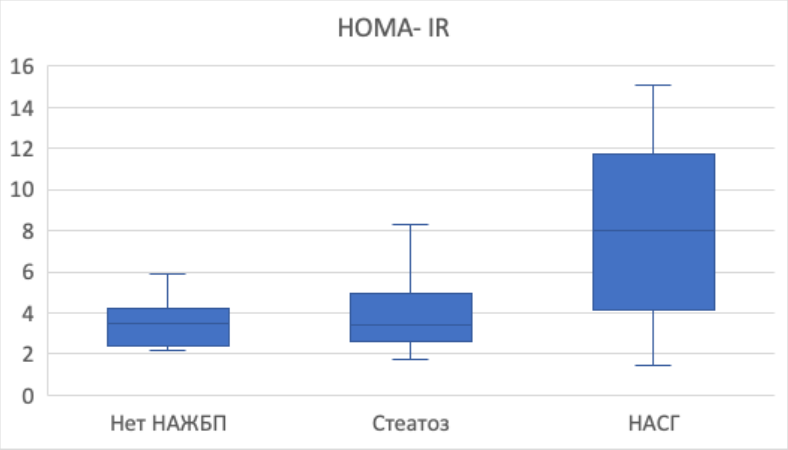
Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; М-индекс – индекс инсулинорезистентности; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance)

При проведении сравнительного анализа с учетом поправки Бонферрони различия наблюдаются по степени ИР (рис.15, 16).



p<0,001
P_0=0,001

Рисунок 15. Сравнительный анализ групп пациентов со стеатозом, НАСГ и без НАЖБП по показателю М-индекса (n=87).
Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; М-индекс – индекс инсулинорезистентности



p<0,001
P_0=0,001

Рисунок 16. Сравнительный анализ групп пациентов со стеатозом, НАСГ и без НАЖБП по показателю HOMA-IR (n=87).
Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); М-индекс – индекс инсулинорезистентности

Отсутствие ИР и легкая степень ИР статистически значимо чаще у пациентов с отсутствием НАЖБП по сравнению с группами пациентов со стеатозом и НАСГ, тяжелая степень ИР, напротив, встречается реже у пациентов с отсутствием НАЖБП (рис. 17).

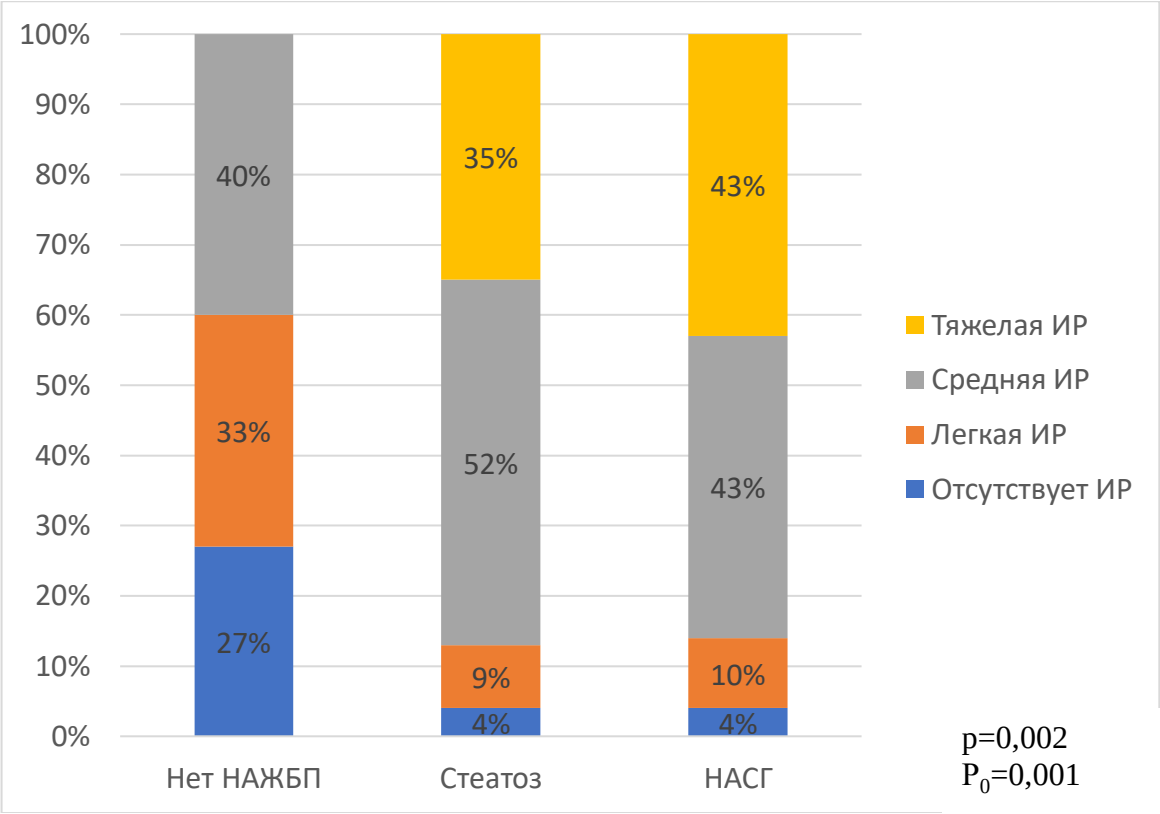


Рисунок 17. Сравнительный анализ групп пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ по степени ИР (n=87)

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; ИР - инсулинорезистентность

Показатели М-индекса и HOMA-IR обладают статистически значимой отрицательной умеренной корреляцией (рис.18).

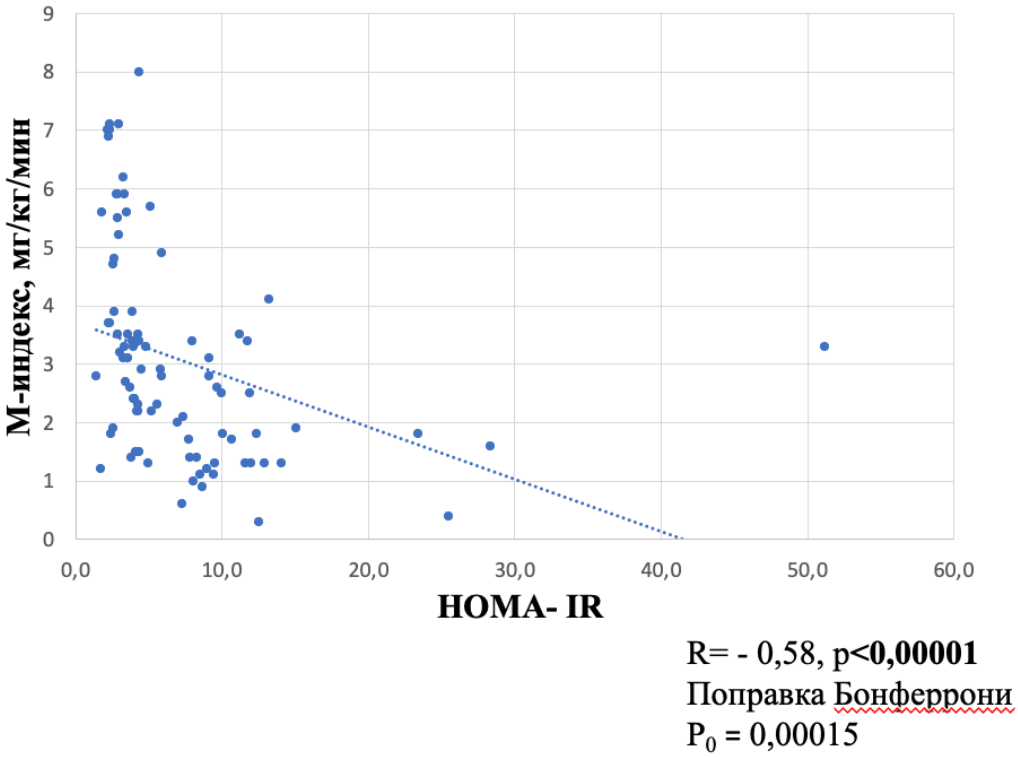


Рисунок 17. Корреляционный анализ М-индекса и HOMA-IR всей группы пациентов (n=87)

Примечания: Поправка Бонферрони P_0 =0,05/331=0,00015

HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); М-индекс – индекс инсулинорезистентности.

При проведении сравнительного анализа групп без НАЖБП, стеатоза, НАСГ с учетом поправки Бонферрони различий по распространенности различных нарушений углеводного обмена не наблюдается (рис. 18).

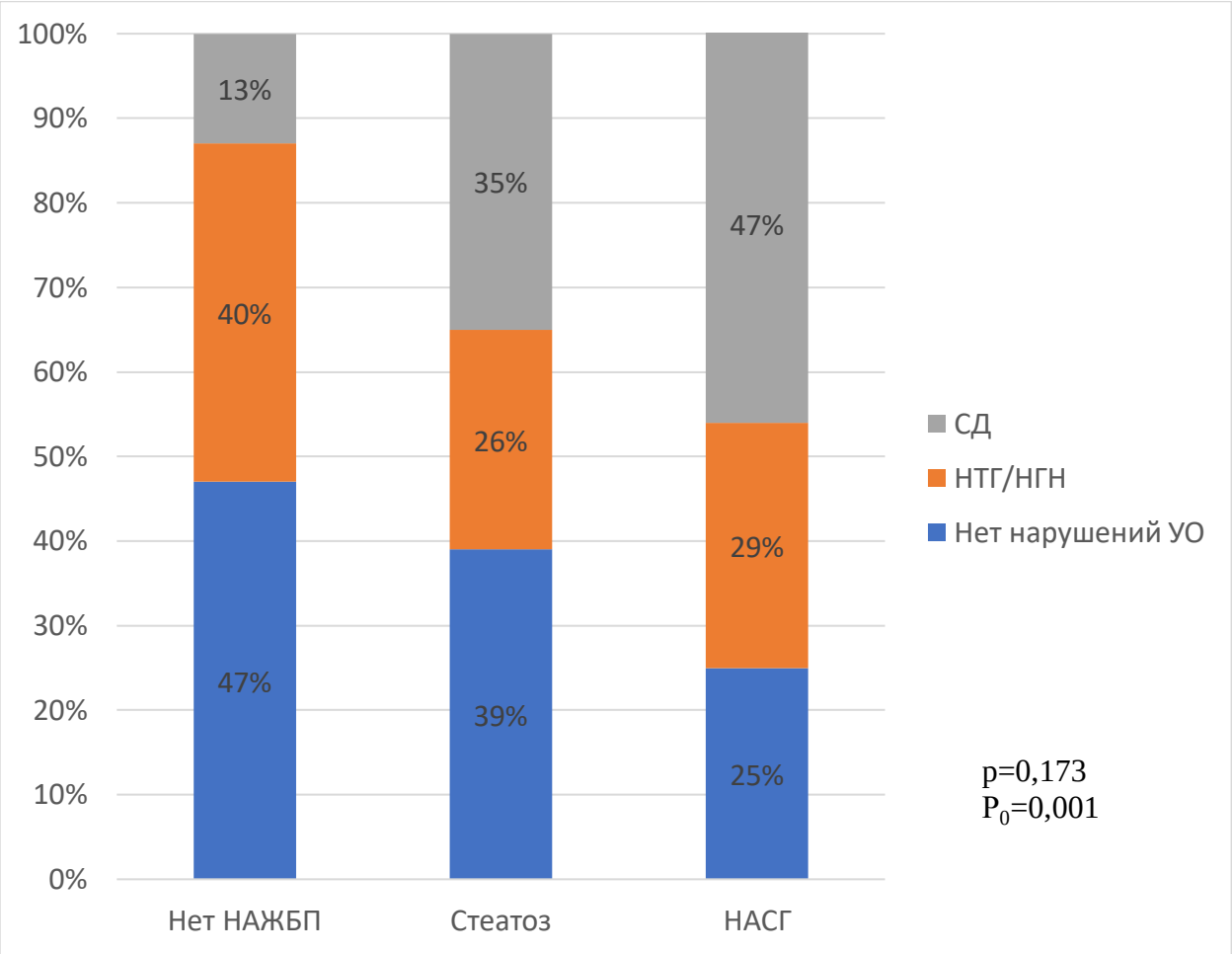


Рисунок 18. Сравнительный анализ групп пациентов с без НАЖБП, стеатозом и НАСГ по нарушениям углеводного обмена (n=87)

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/54=0,001
СД – сахарный диабет, НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе, НГН – нарушенная гликемия натощак, УО – углеводный обмен

3.2.2 Анализ композиционного состава тела

При сравнении общей массы жировой ткани выявлены различия на уровне тенденции между тремя исследуемыми группами, при попарном сравнении показатель общего процента жира выше у пациентов с НАСГ по сравнению с пациентами со стеатозом (табл.18).

Таблица 18. Сравнительный анализ композиционного состава тела групп пациентов без НАЖБП, стеатозом и НАСГ (n=87)

Признак	**Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)**	**Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)**	**НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)**	**p, критерий Краскела -Уоллиса**	**p, post-hoc**
Общий процент жира (%)	37,1 [31,1; 40,0]	32,5 [30,3; 37,1]	38,7 [35,5; 41,0]	0,005	p_{1-2}=0,347 p_{1-3}=0,933 **p_{2-3}=0,003**

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/54=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; ИР - инсулинорезистентность

3.2.3. Анализ данных гистологического исследования биоптатов печени

При оценке степени активности процесса: в группе пациентов без НАЖБП минимальное воспаление выявлено (ИГА от 0 до 3 баллов по Knodell) у 11 пациентов (73%), у 4 пациентов (27%) – слабовыраженная степень гистологической активности (ИГА от 4 до 8 баллов по Knodell), умеренное воспаление выявлено не было (0%) (ИГА от 9 до 12 баллов по Knodell); в группе пациентов со стеатозом минимальное воспаление выявлено (ИГА от 0 до 3 баллов по Knodell) у 18 пациентов (78%), у 4 пациентов (17%) – слабовыраженная степень гистологической активности (ИГА от 4 до 8 баллов по Knodell), у 1 пациента (4%) результаты соответствовали умеренному воспалению (ИГА от 9 до 12 баллов по Knodell); в группе пациентов с НАСГ минимальное воспаление выявлено (ИГА от 0 до 3 баллов по Knodell) у 35 пациентов (71%), у 12 пациентов (24%) – слабовыраженная степень гистологической активности (ИГА от 4 до 8 баллов по Knodell), у 2 пациентов (4%) результаты соответствовали умеренному воспалению (ИГА от 9 до 12 баллов по Knodell). Стеатоз гепатоцитов был обнаружен в группе пациентов без НАЖБП у 4 пациентов (27%), в группе

пациентов со стеатозом у 23 пациентов (100%), в группе пациентов с НАСГ у 49 пациентов (100%). Фиброз печени по Ishak выявлен у 3 пациентов (5 баллов) – 3,4%, у 2 пациентов (4 балла) – 2,3%, у 1 пациента (3 балла) – 1,1%, у 6 пациентов (2 балла) – 6,9%, у 73 пациентов (1 балл) – 83,9%, у 2 пациентов (2,3%) не выявлено фибротических изменений. Фиброз печени по Metavir выявлен у 3 пациентов (4 балла) – 3,4%, у 2 пациентов (3 балла) – 2,3%, у 5 пациентов (2 балла) – 5,7%, у остальных пациентов – 1 балл по шкале Metavir.

3.2.4. Анализ данных ультразвукового исследования и эластографии сдвиговой волны

При проведении УЗИ органов брюшной полости у 15 (17%) пациентов не выявлено признаков НАЖБП, у 72 (83%) пациентов диагностирована НАЖБП. Признаков объемных образований печени у пациентов не выявлено.

Значимых различий по данным эластографии сдвиговой волны между исследуемыми группами не выявлено (табл.19). Соотношение стадий фиброза печени по шкале Metavir на основании результатов эластографии представлено следующим образом: в группе пациентов без НАЖБП F1 у 15 пациентов (100%); в группе пациентов со стеатозом F1 у 21 пациента (91%), F2 у 1 пациента (4%), F3 у 1 пациента (4%); в группе пациентов с НАСГ F1 у 41 пациента (84%), F2 у 4 пациентов (8%), F3 у 1 пациента (2%), F4 у 3 пациентов (6%).

Таблица 19. Сравнительный анализ эластографии сдвиговой волны групп пациентов без НАЖБП, стеатозом и НАСГ (n=87)

Признак	Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)	Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)	НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)	p, критерий Краскела-Уоллиса	p, post-hoc
Эластография, кПа	6,6 [6,4; 6,7]	6,7 [6,2; 6,9]	6,7 [6,3; 7,1]	0,760	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; кПа – килопаскаль, единица измерения эластичности.

Корреляционный анализ данных гистологического исследования и данных эластографии сдвиговой волны

С учетом поправки Бонферрони P_0=0,000064 положительные корреляции на уровне статистических тенденций установлены между показателем «фиброз (Metavir)» и показателями «эластография (кПа)», «эластография (стадия фиброза)» (табл.20).

Таблица 20. Корреляционный анализ показателей фиброза и эластографии в группе пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
Фиброз (Metavir) & Эластография, кПа	87	0,53	**<0,0001**	Положительная умеренная корреляция
Фиброз (Metavir) & Эластография, (стадия фиброза)	87	0,74	**<0,0001**	Положительная умеренная корреляция

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/2=0,025
кПа – килопаскаль, единица измерения эластичности.

3.3. Изучение взаимосвязей различных параметров

3.3.1. Оценка влияния массы тела на стадию НАЖБП

При оценке влияния массы тела на степень развития НАЖБП до более тяжелых стадий статистически значимых различий не выявлено,

можно предположить об отсутствии влияния увеличения массы тела (вплоть до морбидного) на тяжесть течения НАЖБП (рис. 19).

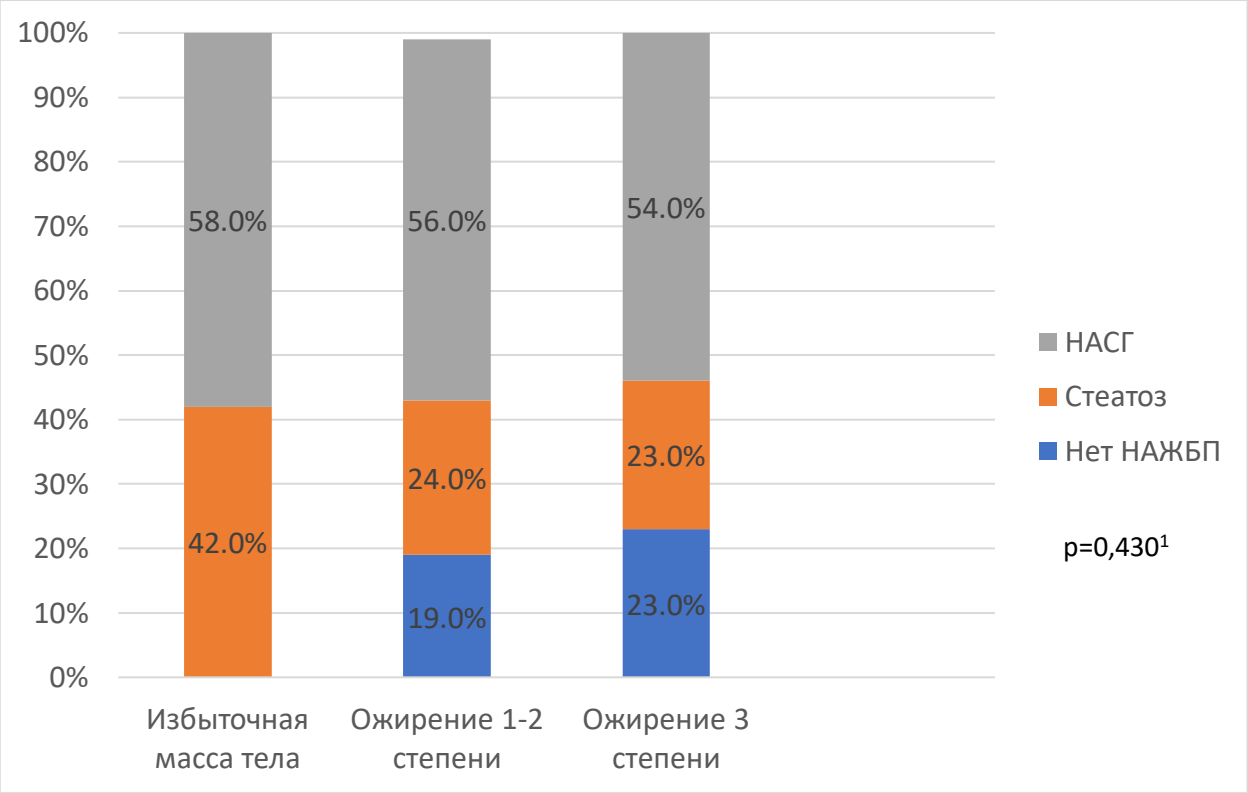


Рисунок 19. Сравнительный анализ групп с различными степенями ожирения по частоте стадий НАЖБП (n=87).

[1]Точный критерий Фишера

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

3.3.2. Ассоциация нарушений углеводного обмена и НАЖБП

При оценке влияния нарушения углеводного обмена (или его отсутствия) на степень развития НАЖБП до более тяжелых стадий статистически значимых различий не выявлено, можно предположить об отсутствии значимой разницы во встречаемости различных нарушений углеводного обмена в изучаемых группах (табл.21).

Таблица 21. Сравнительный анализ групп пациентов без нарушения углеводного обмена, НТГ/НГН, СД по частоте стадий НАЖБП (n=87)

Признак		**Нет нарушений УО (n=28) n (%) (группа 1)**	**НТГ/НГН (n=26) n (%) (группа 2)**	**СД (n=33) n (%) (группа 3)**	**p, критерий χ^2**	**p, post-hoc**
Наличие/отсутствие НАЖБП	*Нет НАЖБП*	7 (25%)	6 (23%)	2 (6%)	0,173	-
	Стеатоз	9 (32%)	6 (23%)	8 (24%)		
	НАСГ	12 (43%)	14 (54%)	23 (70%)		

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/3=0,017
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе; НГН – нарушенная гликемия натощак; СД – сахарный диабет

Для понимания влияния нарушений углеводного обмена на развитие НАЖБП пациенты разделены на следующие группы: нет НАЖБП + нет СД/НТГ/НГН (n=7), нет НАЖБП + есть СД/НТГ/НГН (n=8), есть стеатоз + есть СД/НТГ/НГН (n=14), есть НАСГ + есть СД/НТГ/НГН (n=37), есть стеатоз + нет СД/НТГ/НГН (n=9), есть НАСГ + нет СД/НТГ/НГН (n=12). При сравнении следующих показателей удалось увидеть статистически значимые различия. Рассматривая показатели ИР – М-индекс и HOMA-IR, ИРИ нами выявлены статистически значимые различия показателей в исследуемых группах, таким образом можно предположить о вкладе изменения метаболизма глюкозы в развитие НАЖБП, что в свою очередь безусловно связано с развитием ИР (табл.22, 23). При анализе показателя глюкозы и гликированного гемоглобина полученные данные невозможно полноценно интерпретировать с учетом того, что пациенты с СД – это были пациенты с впервые выявленным СД.

Таблица 22. Сравнительный анализ групп пациентов с различным сочетанием нарушений углеводного обмена и стадий НАЖБП (n=87)

Признак	**Нет НАЖБП + нет СД/НТГ/НГН (n=7) Me [Q1; Q3] (группа 1)**	**Нет НАЖБП + есть СД/НТГ/НГН (n=8) Me [Q1; Q3] (группа 2)**	**Есть стеатоз + есть СД/НТГ/НГН (n=14) Me [Q1; Q3] (группа 3)**	**Есть НАСГ + есть СД/НТГ/НГН (n=37) Me [Q1; Q3] (группа 4)**	**Есть стеатоз + нет СД/НТГ/НГН (n=9) Me [Q1; Q3] (группа 5)**	**Есть НАСГ + нет СД/НТГ/НГН (n=12) Me [Q1; Q3] (группа 6)**	**p, критерий Краскелла-Уоллиса**	**p, post-hoc**
Глюкоза (ммоль/л)	5,22 [4,45; 5,76]	5,29 [4,63; 6,73]	7,61 [6,22; 10,25]	6,90 [5,32; 10,24]	5,43 [5,10; 5,62]	5,24 [4,87; 5,30]	0,012	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,091 p_{1-4}=0,187 p_{1-5}=1,000 p_{1-6}=1,000 p_{2-3}=0,342 p_{2-4}=0,735 p_{2-5}=1,000 p_{2-6}=1,000 p_{3-4}=1,000 p_{3-5}=0,096 p_{3-6}=0,004 p_{4-5}=0,193 p_{4-6}=0,004 p_{5-6}=1,000
HbA1c	5,7 [5,1; 5,9]	5,6 [5,2; 6,2]	7,1 [5,5; 10,2]	6,5 [5,7; 8,2]	5,4 [5,1; 5,8]	5,6 [5,2; 5,9]	**0,003**	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=1,000 p_{1-4}=0,586 p_{1-5}=1,000 p_{1-6}=1,000 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=0,651 p_{2-5}=1,000 p_{2-6}=1,000 p_{3-4}=1,000 p_{3-5}=0,315 p_{3-6}=0,523 p_{4-5}=0,043 p_{4-6}=0,062 p_{5-6}=1,000

М-индекс КЛЭМП	6,9 [3,4; 7,0]	4,1 [2,7; 5,8]	1,9 [1,4; 2,9]	1,8 [1,3; 2,8]	3,7 [3,5; 4,8]	3,5 [2,8; 5,5]	**<0,001**	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,003 p_{1-4}<0,001 p_{1-5}=1,000 p_{1-6}=1,000 p_{2-3}=0,189 p_{2-4}=0,043 p_{2-5}=1,000 p_{2-6}=1,000 p_{3-4}=1,000 p_{3-5}=0,058 p_{3-6}=0,095 p_{4-5}=0,008 p_{4-6}=0,010 p_{5-6}=1,000
HOMA-IR	2,38 [2,28; 3,99]	3,90 [3,41; 5,07]	4,03 [3,08; 7,82]	9,17 [5,91; 12,00]	2,90 [2,64; 3,60]	3,59 [2,94; 5,15]	**<0,001**	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=1,000 p_{1-4}<0,001 p_{1-5}=1,000 p_{1-6}=1,000 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=0,268 p_{2-5}=1,000 p_{2-6}=1,000 p_{3-4}=0,025 p_{3-5}=1,000 p_{3-6}=1,000 p_{4-5}<0,001 p_{4-6}=0,006 p_{5-6}=1,000
ИРИ (мкЕД/мл)	10,11 [8,96; 21,01]	17,38 [14,16; 21,57]	13,14 [10,58; 15,95]	25,02 [19,29; 34,27]	11,70 [11,63; 15,01]	15,71 [13,05; 22,36]	**<0,001**	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=1,000 p_{1-4}=0,004 p_{1-5}=1,000 p_{1-6}=1,000 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=1,000 p_{2-5}=1,000 p_{2-6}=1,000 p_{3-4}<0,001 p_{3-5}=1,000 p_{3-6}=1,000 p_{4-5}=0,006 p_{4-6}=0,455

								p_{5-6}=1,000
С-пептид (нг/мл)	2,66 [2,59; 3,78]	3,66 [2,76; 4,32]	3,57 [3,09; 4,05]	4,23 [3,01; 5,42]	3,16 [3,04; 3,37]	3,88 [3,09; 4,27]	0,040	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,701 p_{1-4}=0,026 p_{1-5}=1,000 p_{1-6}=0,340 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=1,000 p_{2-5}=1,000 p_{2-6}=1,000 p_{3-4}=1,000 p_{3-5}=1,000 p_{3-6}=1,000 p_{4-5}=1,000 p_{4-6}=1,000 p_{5-6}=1,000

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/12=0,004

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе; НГН – нарушенная гликемия натощак; СД – сахарный диабет; М-индекс – индекс инсулинорезистентности; ИРИ – иммунореактивный инсулин; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance)

Таблица 23. Сравнительный анализ групп пациентов по нарушениям углеводного обмена и показателей инсулинорезистентности и инсулинсекретирующей функции поджелудочной железы (n=87)

Признак	**Нет нарушений УО (n=28) Me [Q1; Q3]**	**НТГ/НГН (n=26) Me [Q1; Q3]**	**СД (n=33) Me [Q1; Q3]**	**p**	**p, post-hoc**
М-индекс КЛЭМП	3,8 [3,2; 6,05]	2,6 [1,9; 3,2]	1,5 [1,3; 3,1]	**<0,001[1]**	p_{1-2}=0,005 p_{1-3}<0,001 p_{2-3}=0,084
HOMA-IR	2,97 [2,45; 4,17]	4,08 [3,35; 7,00]	9,41 [7,30; 12,57]	**<0,001[1]**	p_{1-2}=0,120 p_{1-3}<0,001 p_{2-3}<0,001
ИРИ (мкЕД/мл)	13,61 [10,51; 21,33]	18,40 [14,16; 30,68]	21,88 [14,16; 26,3]	0,006[1]	p_{1-2}=0,074 p_{1-3}=0,006 p_{2-3}=1,000
С-пептид (нг/мл)	3,24 [2,74; 3,94]	3,53 [3,09; 5,17]	4,05 [2,98; 5,05]	0,080[1]	-

Примечания: [1] Критерий Краскелла-Уоллиса
Поправка Бонферрони P_0=0,05/25=0,002
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе; НГН – нарушенная гликемия натощак; СД – сахарный диабет; М-индекс – индекс инсулинорезистентности; ИРИ – иммунореактивный инсулин; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); ИРИ – иммунореактивный инсулин

3.3.3. Изучение взаимосвязей между антропометрическими параметрами, параметрами углеводного и липидного обмена, и морфологической картиной печени у пациентов с НАЖБП и без.

При оценке морфологической картины мы использовали следующие параметры:

1) шкалу оценки активности заболевания NAS (баллы по NAS), которая оценивается в баллах и включает в себя оценку степени стеатоза (в баллах), лобулярного воспаления (в баллах), баллонной дистрофии (в баллах). Также в шкалу оценки активности заболевания NAS входит оценка стадии фиброза (фиброз NAS);
2) ИГА (Knodell) - метод ранговой оценки степени выраженности воспаления, некроза и фиброза печени – оценивается в баллах;

3) фиброз оценивался по нескольким шкалам – фиброз (Metavir), фиброз (Ishak), фиброз (NAS). Первые две шкалы представлены в баллах, третья – по стадиям;
4) стеатоз гепатоцитов оценивался в процентах (по Brunt), также в зависимости от процентного содержания жира выделены следующие степени – S0 – стеатоз менее 10%, S1 – стеатоз более 10%, S2 – стеатоз более 33%, S3 – стеатоз более 66% гепатоцитов.

При проведении корреляционного анализа между антропометрическими параметрами и морфологическими изменениями печени при НАЖБП у всех обследованных пациентов (n=87), были выявлены положительная умеренная корреляция ИМТ и индекса гистологической активности; объема талии и индекса гистологической активности; выявлена положительная слабая корреляция соотношения объема талии к объему бедер и индекса гистологической активности, однако с учетом поправки Бонферрони данные различия на уровне тенденции (табл.24).

Таблица 24. Корреляционный анализ всей группы пациентов (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ИМТ (кг/м^2) & ИГА (Knodell)	87	0,30	0,005447	-
ОТ & ИГА (Knodell)	87	0,33	0,001543	-
ОТ/ОБ & ИГА (Knodell)	87	0,23	0,035378	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит; ИМТ – индекс массы тела; ИГА – индекс гистологической активности; ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер.

При проведении корреляционного анализа показателей липидного обмена у пациентов была выявлена отрицательная слабая корреляция показателей общего холестерина и степени стеатоза, ЛПНП и лобулярного воспаления, ЛПНП и баллонной дистрофии, триглицеридов и фиброза (Metavir).

Отрицательной умеренной корреляцией обладают следующие показатели: общий холестерин и баллы по NAS; общий холестерин и индекс гистологической активности; общий холестерин и лобулярное воспаление; общий холестерин и баллонная дистрофия; ЛПНП и степень стеатоза; ЛПНП и баллы по NAS; ЛПНП и индекс гистологической активности. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что пациенты с избыточной массой тела, ожирением без НАЖБП также имеют нарушенный липидный профиль.

Положительную слабую корреляцию имеют показатели ЛПВП и фиброза по Metavir; положительную умеренную корреляцию имеют показатели триглицеридов и процент стеатоза; триглицеридов и степени стеатоза, с учетом поправки Бонферрони данные корреляции на уровне тенденции (табл. 25).

Таблица 25. Корреляционный анализ липидного обмена и морфологических параметров всей группы пациентов (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
Общий холестерин (ммоль/л) & Степень стеатоза	87	-0,24	0,027284	-
Общий холестерин (ммоль/л) & Баллы по NAS	87	-0,35	0,000854	-
Общий холестерин (ммоль/л) & ИГА (Knodell)	87	-0,30	0,005331	-
Общий холестерин (ммоль/л) & Лобулярное воспаление	87	-0,29	0,006802	-
Общий холестерин (ммоль/л) & Баллонная дистрофия	87	-0,27	0,010583	-
ЛПНП (ммоль/л) & Степень стеатоза	87	-0,27	0,011962	-
ЛПНП (ммоль/л) & Баллы по NAS	87	-0,31	0,003676	-
ЛПНП (ммоль/л) & ИГА (Knodell)	87	-0,27	0,011449	-
ЛПНП (ммоль/л) & Лобулярное воспаление	87	-0,21	0,046485	-
ЛПНП (ммоль/л) & Баллонная дистрофия	87	-0,21	0,045749	-
ЛПВП (ммоль/л) & Фиброз (Metavir)	87	0,22	0,042279	-
ТГ (ммоль/л) & % стеатоза (Brunt)	87	0,32	0,002166	-
ТГ (ммоль/л) & Степень стеатоза	87	0,25	0,020406	-

ТГ (ммоль/л) & Фиброз (Metavir)	87	-0,22	0,038004	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ТГ - триглицериды; ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; ИГА – индекс гистологической активности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП.

При проведении корреляционного анализа между параметрами углеводного обмена и морфологическими изменениями печени при НАЖБП, были выявлены следующие взаимодействия: положительная умеренная корреляция наблюдается между показателем гликированного гемоглобина и фиброзом (Ishak); показателем ИРИ и процентом стеатоза; показателем ИРИ и фиброзом (Ishak), (NAS); показателем С-пептида и процентом стеатоза; показателем С-пептида и фиброза (Metavir), (Ishak), (NAS); показателем С-пептида и индексом гистологической активности; С-пептидом и лобулярным воспалением; С-пептидом и баллонной дистрофией, однако с учетом поправки Бонферрони данные различия на уровне тенденции. Также выявлены статистически значимые корреляции между показателем ИРИ и баллонной дистрофией; показателем ИРИ и шкалой активности НАЖБП (NAFLD Activity Score) (табл.26).

Таблица 26. Корреляционный анализ параметров углеводного обмена и показателей морфологических параметров всей группы пациентов (n=87)

Признаки	**N**	**r**	**p, метод Спирмена**	**Примечание**
HbA1c & Фиброз (Metavir)	87	0,23	0,032659	-
HbA1c & Фиброз (Ishak)	87	0,27	0,011251	-
ИРИ (мкЕД/мл) & % стеатоза (Brunt)	87	0,38	0,000328	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Степень стеатоза	87	0,38	0,000265	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Баллы по NAS	87	0,44	**0,000017**	Положительная умеренная корреляция
ИРИ (мкЕД/мл) & Фиброз NAS	87	0,26	0,017122	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Фиброз (Ishak)	87	0,27	0,013041	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Баллонная дистрофия	87	0,45	**0,000011**	Положительная умеренная корреляция
С-пептид (нг/мл) &% стеатоза (Brunt)	87	0,28	0,009035	-

С-пептид (нг/мл) & Степень стеатоза	87	0,25	0,022159	-
С-пептид (нг/мл) & Баллы по NAS	87	0,29	0,005824	-
С-пептид (нг/мл) & Фиброз (Metavir)	87	0,27	0,012388	-
С-пептид (нг/мл) & Фиброз NAS	87	0,30	0,004864	-
С-пептид (нг/мл) & Фиброз (Ishak)	87	0,35	0,000912	-
С-пептид (нг/мл) & ИГА (Knodell)	87	0,29	0,006592	-
С-пептид (нг/мл) & Лобулярное воспаление	87	0,27	0,013011	-
С-пептид (нг/мл) & Баллонная дистрофия	87	0,25	0,017302	-

Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ИРИ – иммунореактивный инсулин; ИГА – индекс гистологической активности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП.

При проведении корреляционного анализа между показателями ИР и морфологическими изменениями печени при НАЖБП, были выявлены следующие ассоциации на уровне статистической тенденции: отрицательная умеренная корреляция М-индекса и % стеатоза; М-индекса и степени стеатоза; М-индекса и баллов по NAS; М-индекса и фиброза по классификации Ishak. Отрицательная слабая корреляция обнаружена у показателей М-индекса и лобулярного воспаления; М-индекса и баллонной дистрофии. Положительная умеренная корреляция наблюдается между показателями HOMA-IR и фиброзом (Ishak), HOMA-IR и процентом стеатоза. Положительные слабые корреляции обнаружены между показателями HOMA-IR и фиброзом (Metavir), NAS. Статистически значимая корреляция между HOMA-IR и баллами по шкале активности НАЖБП (NAFLD Activity Score) и показателем баллонной дистрофии (рис. 20, 21), (табл.27).

Таблица 27. Корреляционный анализ М-индекса, HOMA-индекса и показателей морфологических параметров всей группы пациентов (n=87)

Признаки	**N**	**r**	**p, метод Спирмена**	**Примечание**
М-индекс КЛЭМП & Стеатоз % (Brunt)	87	-0,33	0,001975	-
М-индекс КЛЭМП & Стеатоз степень	87	-0,38	0,000328	-
М-индекс КЛЭМП & Баллы по NAS	87	-0,32	0,002493	-
М-индекс КЛЭМП & Фиброз (Ishak)	87	-0,27	0,012417	-
М-индекс КЛЭМП & Лобулярное воспаление	87	-0,21	0,048234	-
М-индекс КЛЭМП & Баллонная дистрофия	87	-0,23	0,030325	-
HOMA- IR & % стеатоза (Brunt)	87	0,36	0,000520	-
HOMA- IR & Степень стеатоза	87	0,39	0,000228	-
HOMA- IR & Баллы по NAS	87	0,42	**0,000042**	Положительная умеренная корреляция
HOMA- IR & Фиброз (Metavir)	87	0,23	0,033906	-
HOMA- IR & Фиброз NAS	87	0,22	0,041190	-
HOMA- IR & Фиброз (Ishak)	87	0,32	0,002415	-
HOMA-IR & Баллонная дистрофия	87	0,40	**0,000109**	Положительная умеренная корреляция

Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015

HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП; М-индекс – индекс инсулинорезистентности

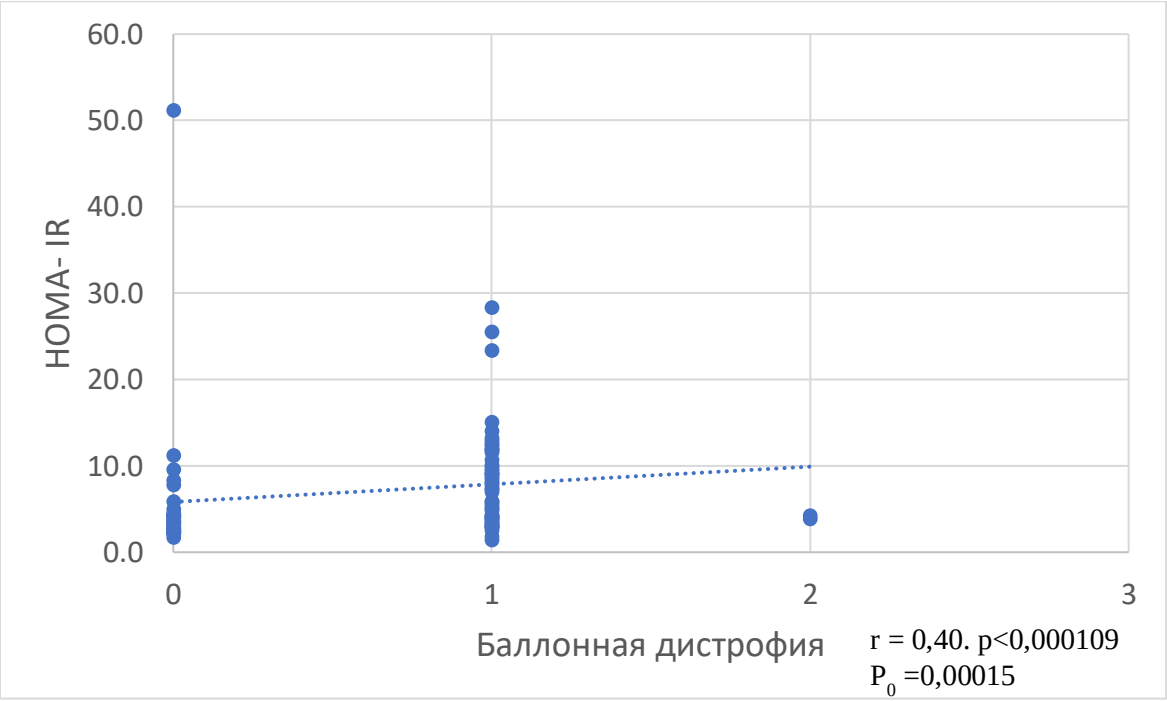


Рисунок 20. Корреляционный анализ HOMA-IR и показателя баллонной дистрофии (n=87)

Примечания: HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance)

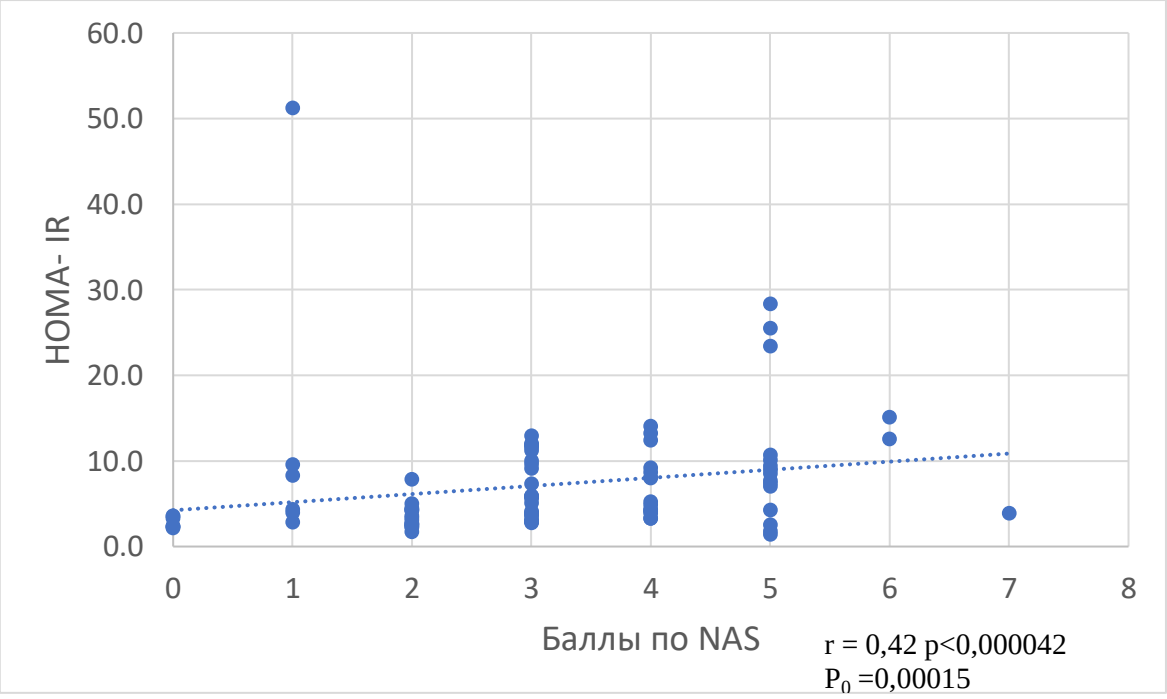


Рисунок 21. Корреляционный анализ HOMA-индекса и степени активности НАЖБП (n=87)

Примечания: HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance), NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП.

3.3.4 Анализ биохимических показателей и морфологической картины печени у пациентов с различной степенью инсулинорезистентности и разными нарушениями углеводного обмена

При проведении сравнительного анализа биохимических параметров печени, таких как АСТ, АЛТ, общий билирубин, щелочная фосфатаза, ГГТ у пациентов с разной степенью выраженности инсулинорезистентности значимых взаимодействий выявлено не было (табл.28).

Таблица 28. Сравнительный анализ биохимических показателей печени групп с разной степенью ИР

Признак	**Отсутствует (n=7) Me [Q1; Q3]**	**Легкая (n=12) Me [Q1; Q3]**	**Средняя (n=39) Me [Q1; Q3]**	**Тяжелая (n=29) Me [Q1; Q3]**	**p**
АЛТ	43 [22; 69]	30 [23,5; 72,75]	40 [31; 69]	51 [31; 78]	0,720
АСТ	24 [22; 31]	31 [25; 51]	31 [25; 46]	34 [22; 50]	0,745
ЩФ	112 [66; 121]	86 [46; 139]	82 [67; 125]	96 [71; 139]	0,853
ГГТ	45 [37; 86]	44,5 [30,5; 60,5]	45 [34; 80]	56 [42; 75]	0,722
Общий билирубин	13,2 [8,3; 15,0]	12,1 [9,9; 16,2]	11,5 [9,7; 18,5]	13,5 [11,7; 15,2]	0,597

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/30=0,002
АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; ЩФ – щелочная фосфатаза; ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

Таблица 29. Сравнительный анализ групп нарушений углеводного обмена

Признак	Нет нарушений УО (n=28) Me [Q1; Q3]	НТГ/НГН (n=26) Me [Q1; Q3]	СД (n=33) Me [Q1; Q3]	p	p, post-hoc
АЛТ	44 [33; 67]	69 [34; 78]	33 [26; 62]	0,033[1]	p_{1-2}=0,989 p_{1-3}=0,335 p_{2-3}=0,030
АСТ	30 [25; 46]	34 [28; 52]	29 [19; 45]	0,153[1]	-
ЩФ	111 [77; 134]	86,5 [68; 125]	92 [65; 134]	0,435[1]	-
ГГТ	45 [35,5; 80]	62 [43; 80]	44 [32; 69]	0,326[1]	-
Общий билирубин	11,9 [9,7; 14,8]	15,0 [9,8; 28,9]	12,6 [9,6; 13,8]	0,156[1]	-

Примечания: [1] Критерий Краскела-Уоллиса
Поправка Бонферрони P_0=0,05/21=0,002
УО - углеводный обмен; НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе; НГН – нарушенная гликемия натощак; СД – сахарный диабет; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; ЩФ – щелочная фосфатаза; ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

Различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по показателю АЛТ – в группе пациентов с НТГ/НГН выше показатель АЛТ, чем в группе пациентов с СД (табл. 29).

Таблица 30. Сравнительный анализ показателей морфологических изменений в группах с различной степенью ИР.

Признак		**Отсутствует (n=7) Me [Q1; Q3]**	**Легкая (n=12) Me [Q1; Q3]**	**Средняя (n=39) Me [Q1; Q3]**	**Тяжелая (n=29) Me [Q1; Q3]**	**p**	**p, post-hoc**
% стеатоза (Brunt)		5 [0; 20]	20 [8; 33]	25 [15; 40]	30 [20; 33]	0,009[1]	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,052 p_{1-4}=0,012 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=0,335 p_{3-4}=1,000
Степень стеатоза	*0 ст.*	4 (57%)	3 (25%)	4 (10%)	0 (0%)	0,002[2]	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,121 p_{1-4}=0,006 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=0,150 p_{3-4}=0,201
	1 ст.	3 (43%)	5 (42%)	21 (54%)	16 (55%)		
	2 ст.	0 (%)	4 (33%)	13 (33%)	7 (24%)		
	3 ст.	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	6 (21%)		
Баллы по NAS		0 [0; 4]	3 [2; 4]	3 [2; 4]	4 [2; 5]	0,057[1]	-
Фиброз (Metavir)	*1 ст.*	7 (100%)	11 (92%)	35 (90%)	24 (83%)	0,533[2]	-
	2 ст.	0 (0%)	1 (8%)	2 (5%)	2 (7%)		
	3 ст.	0 (0%)	0 (0%)	2 (5%)	0 (0%)		
	4 ст.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (10%)		
Фиброз NAS	*1 ст.*	3 (43%)	3 (25%)	8 (21%)	5 (17%)	0,654[2]	-
	2 ст.	4 (57%)	8 (67%)	27 (69%)	19 (66%)		
	3 ст.	0 (0%)	1 (8%)	2 (5%)	2 (7%)		
	4 ст.	0 (0%)	0 (0%)	2 (5%)	0 (0%)		
	5 ст.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (10%)		
Фиброз (Ishak)	*0 ст.*	2 (29%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)		-
	1 ст.	5 (71%)	11 (92%)	35 (90%)	22 (76%)		
	2 ст.	0 (0%)	1 (8%)	1 (3%)	4 (14%)		
	3 ст.	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)		

	4 ст.	0 (0%)	0 (0%)	2 (5%)	0 (0%)		
	5 ст.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (10%)		
ИГА (Knodell)		3 [3; 3]	3 [2; 5]	3 [2; 5]	3 [2; 3]	0,674[1]	-
Лобулярное воспаление		1 [0; 2]	1 [1; 1]	1 [1; 1]	1 [1; 2]	0,357[1]	-
Баллонная дистрофия		0 [0; 1]	1 [0; 1]	1 [0; 1]	1 [0; 1]	0,405[1]	-

Примечания: [1] Критерий Краскела-Уоллиса
[2]Точный критерий Фишера
Поправка Бонферрони P_0=0,05/30=0,002
ИР – индекс инсулинорезистентности; ИГА – индекс гистологической активности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП

Различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по показателям % стеатоза (Brunt) – в группе пациентов с тяжелой ИР выше показатель % стеатоза (Brunt), чем в группе пациентов с отсутствием ИР; в группе пациентов с тяжелой ИР чаще наблюдалась 3 степень стеатоза по сравнению с группой пациентов с отсутствием ИР, и не наблюдалась 0 степень стеатоза (табл. 30).

Различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по степени стеатоза, однако при попарном сравнении статистически значимые различия между группами не обнаружены. Различия на уровне статистических тенденций выявлены по показателю фиброза (NAS) – в группе пациентов с НТГ/НГН чаще 2 степень фиброза NAS, чем в группе пациентов без нарушений УО. Полученные данные могут свидетельствовать о малом количестве субъектов в выраженным фиброзом (табл.31).

Таблица 31. Сравнительный анализ показателей морфологических изменений в группах нарушений углеводного обмена (n=87).

Признак		**Нет нарушений УО (n=28) Me [Q1; Q3]**	**НТГ/НГН (n=26) Me [Q1; Q3]**	**СД (n=33) Me [Q1; Q3]**	**p**	**p, post-hoc**
Стеатоз степень	*0 ст.*	7 (25%)	3 (12%)	1 (3%)	0,026[2]	p_{1-2}=0,179 p_{1-3}=0,165 p_{2-3}=0,228
	1 ст.	15 (54%)	12 (46%)	18 (55%)		
	2 ст.	4 (14%)	11 (42%)	9 (27%)		
	3 ст.	2 (7%)	0 (0%)	5 (15%)		
Баллы по NAS		3 [2; 4]	3 [2; 4]	4 [2; 4]	0,160[1]	-
Фиброз (Metavir)	*1 ст.*	26 (93%)	25 (96%)	26 (79%)	0,284[2]	-
	2 ст.	2 (7%)	1 (4%)	2 (6%)		
	3 ст.	0 (0%)	0 (0%)	2 (6%)		
	4 ст.	0 (0%)	0 (0%)	3 (9%)		
Фиброз NAS	*1 ст.*	11 (39%)	1 (4%)	7 (21%)	0,004[2]	p_{1-2}=0,006 p_{1-3}=0,723 p_{2-3}=0,077
	2 ст.	15 (54%)	24 (92%)	19 (58%)		
	3 ст.	2 (7%)	1 (4%)	2 (6%)		
	4 ст.	0 (0%)	0 (0%)	2 (6%)		
	5 ст.	0 (0%)	0 (0%)	3 (9%)		
Фиброз (Ishak)	*0 ст.*	2 (7%)	0 (0%)	0 (0%)	0,055[2]	-
	1 ст.	24 (86%)	25 (96%)	24 (73%)		
	2 ст.	1 (4%)	1 (4%)	4 (12%)		
	3 ст.	1 (4%)	0 (0%)	0 (0%)		
	4 ст.	0 (0%)	0 (0%)	2 (6%)		
	5 ст.	0 (0%)	0 (0%)	3 (9%)		
ИГА (Knodell)		3 [3; 4]	3 [2; 5]	3 [3; 3]	0,965[1]	-
Лобулярное воспаление		1 [1; 1]	1 [1; 1]	1 [1; 2]	0,517[1]	-
Баллонная дистрофия		1 [0; 1]	1 [0; 1]	1 [0; 1]	0,469[1]	-

Примечания: [1] Критерий Краскела-Уоллиса
[2]Точный критерий Фишера
Поправка Бонферрони P_0=0,05/30=0,002
ИГА – индекс гистологической активности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП; УО - углеводный обмен; НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе; НГН – нарушенная гликемия натощак; СД – сахарный диабет

3.3.5. Анализ показателей органокинов в различных исследуемых группах

При анализе органокинов у пациентов в группах «без НАЖБП», «стеатоз», «НАСГ» с учетом поправки Бонферрони различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по показателям HFREP1 – в группе пациентов со стеатозом выше показатель HFREP1, чем в группе пациентов с отсутствием НАЖБП; гиалуроновая кислота – в группе пациентов с НАСГ выше показатель гиалуроновой кислоты, чем в группе пациентов со стеатозом; лептин – в группе пациентов с НАСГ выше показатель лептина, чем в группе пациентов со стеатозом. При анализе показателя бетатрофина выявлены статистические тенденции к различиям между группами, однако при попарном сравнении различий между группами не обнаружено (табл. 32).

Таблица 32. Сравнительный анализ уровня органокинов в группах пациентов с НАЖБП, стеатозом и НАСГ (n=87)

Признак	**Без НАЖБП (n=15) Me [Q1; Q3] (группа 1)**	**Стеатоз (n=23) Me [Q1; Q3] (группа 2)**	**НАСГ (n=49) Me [Q1; Q3] (группа 3)**	**p, критерий Краскела-Уоллиса**	**p, post-hoc**
Фетуин А мг/мл	0,390 [0,360; 0,450]	0,364 [0,293; 0,423]	0,410 [0,339; 0,440]	0,370	-
Бетатрофин нг/мл	0,980 [0,360; 5,340]	8,188 [0,489; 23,560]	1,043 [0,509; 2,420]	0,047	p_{1-2}=0,188 p_{1-3}=1,000 p_{2-3}=0,055
Фетуин В мкг/мл	260,7 [91,1; 302,9]	197,5 [112,6; 285,4]	196,0 [160,8; 255,3]	0,673	-
Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	2,90 [0,76; 3,80]	1,96 [1,09; 3,78]	1,70 [0,82; 3,62]	0,650	-
RBP4 (ретинол-связывающий белок-4) мкг/мл	33,67 [28,56; 35,44]	31,55 [30,21; 36,39]	29,61 [27,69; 33,41]	0,167	-
Цитокератин-18 мЕД/мл	230,92 [203,67; 811,55]	287,82 [195,43; 598,65]	232,49 [96,09; 387,58]	0,082	-

HFREP1 (гепассоцин) нг/мл	7,88 [5,99; 10,55]	13,39 [7,96; 18,43]	11,08 [6,83; 17,89]	0,045	p_{1-2}=0,039 p_{1-3}=0,219 p_{2-3}=0,731
Человеческий Fas лиганд нг/мл	0 [0; 0,01]	0 [0; 0]	0 [0; 0,01]	0,640	-
PIIINP нг/мл	7,49 [7,05; 7,87]	7,23 [6,83; 8,21]	7,39 [7,19; 7,86]	0,570	-
Гиалуроновая кислота нг/мл	21,56 [14,49; 51,94]	14,49 [9,28; 22,89]	23,78 [16,93; 34,74]	0,010	p_{1-2}=0,190 p_{1-3}=1,000 p_{2-3}=0,008
FABP4 нг/мл	24,32 [16,45; 52,69]	30,75 [19,03; 38,32]	35,26 [24,58; 42,65]	0,488	-
Адипонектин мкг/мл	8,05 [4,92; 10,05]	6,71 [4,82; 7,44]	5,71 [4,93; 7,58]	0,089	-
Резистин нг/мл	4,19 [2,23; 5,34]	3,19 [2,18; 3,69]	2,73 [2,25; 3,82]	0,090	-
Висфатин нг/мл	14,56 [12,66; 15,44]	12,73 [11,56; 14,94]	13,34 [11,86; 16,59]	0,208	-
Лептин нг/мл	16,39 [9,55; 28,39]	7,07 [4,91; 21,94]	16,35 [8,86; 37,31]	0,036	p_{1-2}=0,139 p_{1-3}=1,000 p_{2-3}=0,045

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/51=0,001
НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени; НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

Таблица 33. Сравнительный анализ уровня органокинов в группах пациентов с разной степенью ИР (n=87)

Признак	***Отсутствует (n=7) Me [Q1; Q3]***	**Легкая (n=12) Me [Q1; Q3]**	**Средняя (n=39) Me [Q1; Q3]**	**Тяжелая (n=29) Me [Q1; Q3]**	**p**	**p, post-hoc**
FGF21 пг/мл	847,578 [285,41; 1825,578]	1070,081 [404,106; 1269,377]	987,36 [482,606; 1250,032]	947,33 [433,068; 1183,51]	0,906[1]	-
Фетуин А мг/мл	0,335 [0,27; 0,36]	0,4015 [0,329; 0,434]	0,406 [0,34; 0,45]	0,406 [0,339; 0,432]	0,315[1]	-
Бетатрофин нг/мл	1,96 [0,34; 2,382]	0,9945 [0,4545; 5,395]	1,02 [0,57; 7,13]	1,577 [0,433; 4,359]	0,661[1]	-
Фетуин В мкг/мл	126,3 [20,99; 282,29]	277,82 [109,915; 322,3]	187,1 [122,4; 286,4]	204,6 [175,1; 272,3]	0,264[1]	-
Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	3,24 [2,98; 3,94]	1,265 [0,76; 4,565]	1,83 [0,74; 4,23]	1,7 [1,03; 2,54]	0,228[1]	-
Ретинол-связывающий белок-4 мкг/мл	33,67 [28,93; 35,44]	28,71 [26,44; 33,58]	30,21 [27,26; 35,09]	32,41 [29,67; 34,08]	0,413[1]	-
Type I cytoskeletal 18 fragment мЕД/мл	444,92 [230,92; 1112,3]	203,695 [187,115; 301,815]	232,78 [153,23; 561,94]	271,36 [161,91; 388,74]	0,191[1]	-
HFREP1 (гепассоцин) нг/мл	7,87 [6,56; 9,59]	14,52 [7,96; 27,73]	9,26 [6,86; 16,57]	11,64 [6,94; 17,47]	0,213[1]	-
Человеческий Fas лиганд нг/мл	0 [0; 0]	0 [0; 0,005]	0 [0; 0,01]	0 [0; 0]	0,966[1]	-
PIIINP нг/мл	7,87 [7,02; 7,99]	7,285 [7,12; 7,525]	7,22 [7,05; 7,61]	7,66 [7,38; 8,09]	0,045[1]	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,856 p_{1-4}=1,000 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=0,428 p_{3-4}=0,067

Гиалуроновая кислота г/мл	24,66 [22,01; 60,06]	18,11 [15,05; 26,34]	25,09 [13,99; 35,15]	20,65 [15,96; 25,09]	0,692[1]	-
FABP4 нг/мл	24,58 [22,87; 75,68]	50,22 [23,205; 52,65]	30,75 [18,86; 40,26]	31,67 [21,59; 38,57]	0,310[1]	-
Адипонектин мкг/мл	9,78 [8,17; 10,04]	7,95 [5,71; 9,24]	6,21 [4,91; 8,01]	5,34 [4,82; 6,71]	0,012[1]	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,114 p_{1-4}=0,018 p_{2-3}=1,000 p_{2-4}=0,222 p_{3-4}=1,000
Резистин нг/мл	5,22 [4,57; 5,33]	4,05 [2,68; 4,84]	3,01 [2,19; 4,06]	2,47 [2,22; 3,23]	0,015[1]	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,094 p_{1-4}=0,024 p_{2-3}=0,969 p_{2-4}=0,278 p_{3-4}=1,000
Висфатин нг/мл	15,44 [13,02; 18,68]	13,95 [12,45; 16,81]	13,82 [11,56; 14,94]	12,62 [11,56; 15,61]	0,067[1]	-
Лептин нг/мл	9,29 [8,45; 17,16]	16,825 [6,765; 44,905]	14,42 [7,41; 33,87]	12,77 [6,58; 35,21]	0,750[1]	-

Примечания: [1] Критерий Краскела-Уоллиса
Поправка Бонферрони P_0=0,05/30=0,002
FGF21 - фактор роста фибробластов 21; PIIINP - N-терминальный пропептида проколлаген III; FABP4 – белок, связывающий жирные кислоты 4; Type I cytoskeletal 18 fragment – цитокератин 18

При сравнении пациентов с различной степенью ИР по уровню органокинов выявлены различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по показателям: адипонектин – в группе пациентов с тяжелой степенью ИР ниже показатель адипонектина, чем в группе пациентов с отсутствием ИР; резистин – в группе пациентов с тяжелой степенью ИР ниже показатель резистина, чем в группе пациентов с отсутствием ИР. При сравнении групп с различной степенью ИР показатель PIIINP оказался статистически значимым, однако при попарном сравнении групп статистически значимые различия не обнаружены (табл. 33)

Таблица 34. Сравнительный анализ органокинов в группах нарушений углеводного обмена (n=87).

Признак	**Нет нарушений УО (n=28) Me [Q1; Q3]**	**НТГ/НГН (n=26) Me [Q1; Q3]**	**СД (n=33) Me [Q1; Q3]**	**p**	**p, post-hoc**
FGF21 пг/мл	910,76 [372,888; 1303,395]	775,007 [399,97; 1088,806]	952,234 [433,78; 1079,85]	0,825[1]	-
Фетуин А мг/мл	0,353 [0,294; 0,434]	0,418 [0,391; 0,45]	0,367 [0,339; 0,432]	0,037[1]	p_{1-2}=0,038 p_{1-3}=1,000 p_{2-3}=0,191
Бетатрофин нг/мл	0,977 [0,499; 2,356]	5,279 [0,57; 7,15]	1,08 [0,433; 3,45]	0,184[1]	-
Фетуин В мкг/мл	171,5 [109,915; 258]	249,85 [137,5; 303,87]	199,23 [175,1; 248,9]	0,146[1]	-
Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	3,455 [2,015; 6,325]	0,79 [0,71; 1,87]	1,73 [1,09; 2,56]	**<0,001[1]**	p_{1-2}<0,001 p_{1-3}=0,020 p_{2-3}=0,185
RBP4 (ретинол-связывающий белок-4) мкг/мл	31,795 [27,755; 35,875]	30,315 [27,17; 33,42]	31,03 [28,48; 33,17]	0,425[1]	-
Type I cytoskeletal 18 fragment мЕД/мл	280,94 [174,56; 684,495]	257,62 [181,22; 547,34]	232,78 [161,91; 324,21]	0,232[1]	-
HFREP1 нг/мл	10,915 [7,875; 15,485]	7,495 [5,99; 14,61]	12,08 [8,36; 18,95]	0,101[1]	-
Человеческий Fas лиганднг/мл	0 [0; 0,01]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0,081[1]	-

PIIINP нг/мл	7,365 [7,045; 7,795]	7,41 [7,06; 7,87]	7,51 [7,15; 8,19]	0,847[1]	-
Гиалуроновая кислота нг/мл	20,645 [14,215; 30,82]	15,33 [12,75; 25,09]	23,78 [19,28; 42,18]	0,008[1]	p_{1-2}=0,844 p_{1-3}=0,156 p_{2-3}=0,007
FABP4 нг/мл	33,575 [22,11; 47,51]	38,675 [30,73; 49,91]	26,42 [19,03; 35,26]	0,099[1]	-
Адипонектин мкг/мл	8,03 [5,325; 9,845]	6,23 [5,37; 7,91]	5,23 [4,57; 6,71]	0,010[1]	p_{1-2}=1,000 p_{1-3}=0,009 p_{2-3}=0,150
Резистин нг/мл	4,125 [2,48; 5,245]	3,025 [2,34; 4,01]	2,47 [2,05; 3,23]	0,015[1]	p_{1-2}=0,968 p_{1-3}=0,013 p_{2-3}=0,232
Висфатин нг/мл	13,98 [12,745; 16,11]	12,225 [11,54; 14,87]	12,76 [11,18; 15,66]	0,130[1]	-
Лептин нг/мл	9,71 [7,24; 30,5]	25,115 [9,58; 33,91]	12,62 [6,58; 27,13]	0,442[1]	-

Примечания: [1] Критерий Краскела-Уоллиса
Поправка Бонферрони P_0=0,05/21=0,002
УО - углеводный обмен; НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе; НГН – нарушенная гликемия натощак; СД – сахарный диабет; FGF21 - фактор роста фибробластов 21; PIIINP - N-терминальный пропептида проколлаген III; FABP4 – белок, связывающий жирные кислоты 4; Type I cytoskeletal 18 fragment – цитокератин 18

Статистически значимые различия наблюдались по показателю: ангиопоэтинподобный белок – в группе пациентов без нарушений УО показатель ангиопоэтинподобного белка выше, чем в группах пациентов с НТГ/НГН и СД.

Различия на уровне статистических тенденций наблюдаются по следующим показателям: фетуин А – в группе пациентов с НТГ/НГН выше показатель фетуина А, чем в группе пациентов без нарушений углеводного обмена; гиалуроновая кислота – в группе пациентов с СД выше показатель гиалуроновой кислоты, чем в группе пациентов с НТГ/НГН; адипонектин – в группе пациентов с СД ниже показатель адипонектина, чем в группе пациентов без нарушений углеводного обмена; резистин – в группе пациентов с СД ниже показатель резистина, чем в группе пациентов без нарушений углеводного обмена (табл. 34).

Таблица 35. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю лептина (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ИМТ (кг/м2) & Лептин нг/мл	87	0,59	**<0,00001**	Положительная умеренная корреляция
ОТ & Лептин нг/мл	87	0,34	0,001113	-
ОБ & Лептин нг/мл	87	0,47	**0,000005**	Положительная умеренная корреляция
%жира & Лептин нг/мл	87	0,51	**<0,00001**	Положительная умеренная корреляция
ИРИ (мкЕД/мл) & Лептин нг/мл	87	0,31	0,003520	-
HOMA-IR & Лептин нг/мл	87	0,23	0,031859	-
ГГТ (ЕД/л) & Лептин нг/мл	87	0,23	0,032359	-
Общий билирубин (мкмоль/л) & Лептин нг/мл	86	-0,26	0,014544	-
Креатинин (мкмоль/л) & Лептин нг/мл	87	-0,53	**<0,00001**	Отрицательная умеренная корреляция
Мочевая к-та (мкмоль/л) & Лептин нг/мл	87	-0,24	0,024307	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ИМТ – индекс массы тела; ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер; ИРИ – иммуннореактивный инсулин; ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance),

Таблица 36. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю адипонектина (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ОТ/ОБ & Адипонектин мкг/мл	87	-0,35	0,000765	-
ОТ/ОБ & Адипонектин мкг/мл	87	-0,35	0,000765	-
Глюкоза (ммоль/л) & Адипонектин мкг/мл	87	-0,28	0,007708	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Адипонектин мкг/мл	87	-0,28	0,008599	-

С-пептид (нг/мл) & Адипонектин мкг/мл	87	-0,26	0,015628	-
HOMA-IR & Адипонектин мкг/мл	87	-0,33	0,001750	-
М-индекс КЛЭМП & Адипонектин мкг/мл	87	0,31	0,003508	-
ЛПВП (ммоль/л) & Адипонектин мкг/мл	87	0,22	0,036698	-
Креатинин (мкмоль/л) & Адипонектин мкг/мл	87	-0,3	0,004143	-
Фиброз (Ishak) & Адипонектин мкг/мл	87	-0,26	0,015442	-
Лобулярное воспаление & Адипонектин мкг/мл	87	-0,25	0,019377	-
Фиброз NAS & Адипонектин мкг/мл	87	-0,21	0,049897	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер; ИРИ – иммуннореактивный инсулин; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); ЛПВП – липопротеины высокой плотности; М-индекс – индекс инсулинорезистентности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП

Таблица 37. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю гиалуроновой кислоты (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ОТ/ОБ & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,29	0,006764	-
HbA1c & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,38	0,000259	-
Глюкоза (ммоль/л) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,38	0,000338	-
HOMA-IR & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,3	0,005205	-
Общий холестерин (ммоль/л) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	-0,29	0,005621	-
ТГ (ммоль/л) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	-0,26	0,013167	-
АЛТ (ЕД/л) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	-0,22	0,039066	-
СКФ по EPI & гиалуроновая кислота нг/мл	87	-0,38	0,000285	-

Общий белок (г/л) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	-0,27	0,011490	-
ИГА (Knodell) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,4	0,000118	Положительная умеренная корреляция
Фиброз (Metavir) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,36	0,000649	-
Фиброз (Ishak) & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,26	0,016328	-
Баллонная дистрофия & гиалуроновая кислота нг/мл	87	0,22	0,042695	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер; HbA1c – гликированный гемоглобин; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); ТГ – триглицериды; АЛТ – аланинаминотрансфераза; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; ИГА - индекс гистологической активности

Таблица 38. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю резистина (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ОТ/ОБ & Резистин нг/мл	87	-0,37	0,000351	-
Глюкоза (ммоль/л) & Резистин нг/мл	87	-0,27	0,011267	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Резистин нг/мл	87	-0,29	0,007293	-
HOMA-индекс & Резистин нг/мл	87	-0,33	0,002088	-
М-индекс КЛЭМП & Резистин нг/мл	87	0,3	0,004998	-
С-пептид (нг/мл) & Резистин нг/мл	87	-0,29	0,006769	-
ЛПВП (ммоль/л) & Резистин нг/мл	87	0,25	0,018466	-
Креатинин (мкмоль/л) & Резистин нг/мл	87	-0,29	0,006994	-
Фиброз (Ishak) & Резистин нг/мл	87	-0,26	0,014106	-
Лобулярное воспаление & Резистин нг/мл	87	-0,25	0,017564	-
Фиброз NAS & Резистин нг/мл	87	-0,22	0,044198	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015

ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); ИРИ – иммунореактивный инсулин; М-индекс – индекс инсулинорезистентности; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП

Таблица 39. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю висфатина (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
М-индекс КЛЭМП & Висфатин нг/мл	87	0,27	0,012756	-
ЛПВП (ммоль/л) & Висфатин нг/мл	87	-0,31	0,003066	-
ЩФ (ЕД/л) & Висфатин нг/мл	87	-0,28	0,008239	-
Креатинин (мкмоль/л) & Висфатин нг/мл	87	0,29	0,005933	-
СКФ по EPI & Висфатин нг/мл	87	-0,4	0,000152	-
Фиброз (Metavir) & Висфатин нг/мл	87	-0,28	0,009328	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
М-индекс – индекс инсулинорезистентности; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ЩФ – щелочная фосфатаза; СКФ – скорость клубочковой фильтрации

Таблица 40. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю RBP4 (ретинол-связывающий белок-4) (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ИМТ (кг/м2) & RBP4 мкг/мл	87	-0,3	0,004321	-
%жира & RBP4 мкг/мл	87	-0,25	0,020931	-
ИРИ (мкЕД/мл) & RBP4 мкг/мл	87	-0,22	0,037487	-
Общий холестерин (ммоль/л) & RBP4 мкг/мл	87	0,32	0,002620	-
ЛПНП (ммоль/л) & RBP4 мкг/мл	87	0,27	0,011714	-
АЛТ (ЕД/л) & RBP4 мкг/мл	87	0,25	0,020823	-
АСТ (ЕД/л) & RBP4 мкг/мл	87	0,25	0,019485	-

ЩФ (ЕД/л) & RBP4 мкг/мл	87	0,23	0,030171	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
RBP4 - ретинол-связывающий белок-4; ИМТ – индекс массы тела; ИРИ – иммунореактивный инсулин; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ЩФ – щелочная фосфатаза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ - аланинаминотрансфераза

Таблица 41. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю FABP4 (белка, связывающего жирные кислоты 4) (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ИМТ (кг/м2) & FABP4 нг/мл	87	0,46	**0,000008**	Положительная умеренная корреляция
ОТ & FABP4 нг/мл	87	0,25	0,019226	-
ОБ & FABP4 нг/мл	87	0,36	0,000552	-
%жира & FABP4 нг/мл	87	0,39	0,000194	-
Креатинин (мкмоль/л) & FABP4 нг/мл	87	-0,26	0,017008	-
Общий белок (г/л) & FABP4 нг/мл	87	-0,23	0,031211	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
FABP4 – белок, связывающий жирные кислоты 4; ИМТ – индекс массы тела; ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер

Таблица 42. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю бетатрофина (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ОТ/ОБ & Бетатрофин нг/мл	87	-0,29	0,005662	-
ИРИ (мкЕД/мл) & Бетатрофин нг/мл	87	-0,22	0,044346	-
ЩФ (ЕД/л) & Бетатрофин нг/мл	87	-0,24	0,024483	-
Ферритин (мкг/л) & Бетатрофин нг/мл	87	0,21	0,047181	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер; ЩФ – щелочная фосфатаза

Таблица 43. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю PIIINP (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ОБ & PIIINP нг/мл	87	0,21	0,048268	-
%жира & PIIINP нг/мл	87	0,38	0,000285	-
ТГ (ммоль/л) & PIIINP нг/мл	87	-0,34	0,001118	-
Мочевина (ммоль/л) & PIIINP нг/мл	87	-0,24	0,024032	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
PIIINP - N-терминальный пропептида проколлаген III; ОБ – объем бедер; ТГ - триглицериды

Таблица 44. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю фетуина B (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ОТ/ОБ & Фетуин B мкг/мл	87	-0,3	0,004945	-
Общий белок (г/л) & Фетуин B мкг/мл	87	0,33	0,001528	-
ЛПВП (ммоль/л) & Фетуин B мкг/мл	87	0,27	0,012031	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
ОТ – объем талии; ОБ – объем бедер; ЛПВП – липопротеины высокой плотности

Таблица 45. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю Type I cytoskeletal 18 fragment (Цитокератин-18) (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
%жира & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	-0,33	0,001816	-
ИРИ (мкЕД/мл) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	-0,33	0,002069	-
HOMA-IR & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	-0,27	0,010142	-
ЛПВП (ммоль/л) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	-0,22	0,040454	-

ТГ (ммоль/л) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	0,29	0,005825	-
Общий билирубин (мкмоль/л) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	86	0,23	0,036942	-
Ферритин (мкг/л) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	0,36	0,000617	-
Фиброз (Metavir) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	-0,25	0,017971	-
Фиброз (Ishak) & *Type I cytoskeletal 18 fragment* мЕД/мл	87	-0,29	0,007437	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015

Type I cytoskeletal 18 fragment - цитокератин-18; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); ИРИ – иммунореактивный инсулин; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ТГ – триглицериды

Таблица 46. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю ангиопоэтинподобного белка (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ИРИ (мкЕД/мл) & Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	87	-0,24	0,027438	-
HOMA-IR & Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	87	-0,26	0,015851	-
ЛПВП (ммоль/л) & Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	87	-0,23	0,029971	-
ИГА (Knodell) & Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	87	-0,24	0,024242	-
Фиброз NAS & Ангиопоэтинподобный белок нг/мл	87	-0,27	0,010005	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015

ИРИ – иммунореактивный инсулин; HOMA-IR – индекс инсулинорезистентности (Homeostasis model assessment of insulin resistance); ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ИГА – индекс гистологической активности; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП

Таблица 47. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю Human FAS Ligand (человеческий Fas лиганд) (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
HbA1c & Human FAS Ligand нг/мл	87	-0,23	0,034555	-
Глюкоза (ммоль/л) & Human FAS Ligand нг/мл	87	-0,22	0,045389	-
Эласто кПа & Human FAS Ligand нг/мл	87	0,21	0,048508	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
Human FAS Ligand - человеческий Fas лиганд; HbA1c – гликированный гемоглобин; эласто кПа – показатель эластографии, килопаскаль.

Таблица 48. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю HFREP1 (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
ЛПНП (ммоль/л) & HFREP1 нг/мл	87	-0,32	0,002791	-
Фиброз (Metavir) & HFREP1 нг/мл	87	0,3	0,004164	-
Фиброз (Ishak) & HFREP1 нг/мл	87	0,39	0,000191	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015

HFREP1 – гепассоцин; ЛПНП – липопротеины низкой плотности

Таблица 49. Корреляционный анализ всей группы пациентов по показателю FGF21 (n=87)

Признаки	N	r	p, метод Спирмена	Примечание
Креатинин (мкмоль/л) & FGF21 пг/мл	87	-0,28	0,009035	-
Общий белок (г/л) & FGF21 пг/мл	87	-0,24	0,027470	-
ИГА (Knodell) & FGF21 пг/мл	87	0,25	0,020038	-

Примечания: Поправка Бонферрони P_0=0,05/313=0,00015
FGF21 - фактор роста фибробластов 21

С учетом поправки Бонферрони статистически значимые положительные умеренные корреляции наблюдаются между показателями

ИМТ, ОБ и % жира с лептином (табл.35), а также ИМТ и FABP4 (табл.41). Отрицательная умеренная корреляция наблюдается между лептином и креатинином (табл.35). Однако, умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции также обладают ОТ, ИРИ и лептин; слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают HOMA-IR, ГГТ и лептин; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции также обладают общий билирубин и лептин; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции также обладают мочевая кислота и лептин (табл.35).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают показатель М-индекса и адипонектина; слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ЛПВП и адипонектин; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОТ/ОБ, глюкоза, ИРИ, С-пептид, HOMA-IR, креатинин, фиброз (Ishak), лобулярное воспаление и адипонектин; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают фиброз (NAS) и адипонектин (табл.36).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОТ/ОБ, гликированный гемоглобин, глюкоза, HOMA-IR, ИГА (Knodell), фиброз (Metavir), фиброз (Ishak) и гиалуроновая кислота; слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают баллонная дистрофия и гиалуроновая кислота; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают общий холестерин, триглицериды, СКФ по EPI, общий белок и гиалуроновая кислота; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают АЛТ и гиалуроновая кислота (табл.37).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают показатель М-индекса, ЛПВП и резистин; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОТ/ОБ, глюкоза, ИРИ, HOMA-IR, С-пептид, креатинин,

фиброз (Ishak), лобулярное воспаление и резистин; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают фиброз (NAS) и резистин (табл.38).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают показатель М-индекса, креатинина и висфатин; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции ЛПВП, щелочная фосфатаза, СКФ по EPI и висфатин (табл.39).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают общий холестерин, ЛПНП, АЛТ, АСТ и RBP4; слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают щелочная фосфатаза и RBP4; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ИМТ, %жира и RBP4; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ИРИ и RBP4 (табл.40).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОТ, ОБ, % жира и FABP4; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают креатинин и FABP4; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают общий белок и FABP4 (табл.41).

С учетом поправки Бонферрони слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ферритин и бетатрофин; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОТ/ОБ и бетатрофин; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ИРИ, щелочная фосфатаза и бетатрофин (табл.42).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают %жира и PIIINP; слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОБ и PIIINP; умеренной отрицательной корреляцией на уровне

статистической тенденции обладают триглицериды и PIIINP; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают мочевина и PIIINP (табл.43).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают общий белок, ЛПВП и фетуин B; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ОТ/ОБ и фетуин B (табл.44).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают триглицериды, ферритин и Type1 cytosceletal 18; слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают общий билирубин и Type1 cytosceletal 18; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают %жира, ИРИ, HOMA-IR и Type1 cytosceletal 18; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции ЛПВП и Type1 cytosceletal 18 (табл.45).

С учетом поправки Бонферрони умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают HOMA-IR, фиброз (NAS)| и ангиопоэтинподобный белок; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ИРИ, ЛПВП, ИГА (Knodell) и ангиопоэтинподобный белок (табл.46).

С учетом поправки Бонферрони слабой положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают показатель эластографии (кПа) и Human Fas L; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают глюкоза, гликированный гемоглобин и Человеческий Fas лиганд (табл.47).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают фиброз (Metavir), (Ishak) и HFREP1; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ЛПНП и HFREP1 (табл.48).

С учетом поправки Бонферрони умеренной положительной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают ИГА (Knodell) и FGF21; умеренной отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают креатинин и FGF21; слабой отрицательной корреляцией на уровне статистической тенденции обладают общий белок и FGF21 (табл.49).

3.4. Молекулярно-биологическая часть исследования

3.4.1. Результаты экспрессии FXR методом Вестерн-блот

Анализ количества белка FXR в биоптатах печени проводили методом Вестерн-блот. Было показано, что в лизате биоптата печени присутствует множество изоформ белка FXR (рис. 22), однако ввиду малого количества белка FXR в лизате биоптата печени и отсутствия коммерчески доступных высокоспецифичных антител к нему полуколичественная оценка экспрессии FXR данным методом невозможна. Был сделан вывод, что в дальнейшем метод Вестерн-блот целесообразно использовать лишь при обнаружении значительных отличий в экспрессии FXR на уровне мРНК методом ПЦР в реальном времени.

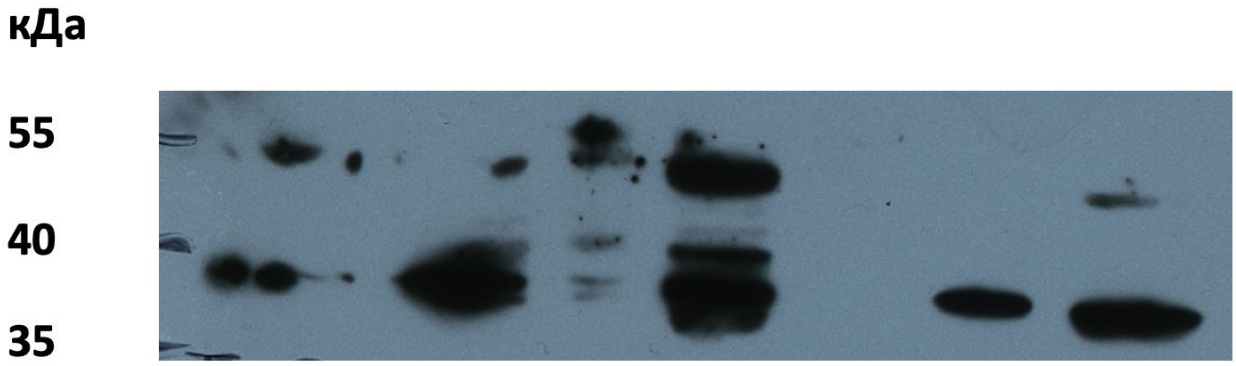


Рисунок 22. Экспрессия FXR в цитоплазматической фракции клеток печени, оцененная методом Вестерн-блот.

3.4.2. Результаты экспрессии FXR при помощи иммуногистохимического исследования

Также в нашей работе для оценки экспрессии FXR был проведен иммуногистохимический анализ. Ввиду того, что парафиновые блоки биопсии печени содержат малое количество материала, а также

используются для рутинной оценки тяжести НАЖБП и фиброза, нами был получены парафиновые блоки для 22 пациентов из выборки.

При проведении иммуногистохимического анализа (рис. 23) экспрессии FXR наличие специфического окрашивания ядер антителами против FXR было продемонстрировано для всех проанализированных образцов, однако полуколичественный анализ уровня экспрессии FXR не был успешным из-за небольшого количества образцов, а также из-за сложности его оценки из-за наличия краевого окрашивания. Поскольку срезы образцов биопсии печени довольно малы и часто характеризуются многочисленными краевыми повреждениями, невозможно достоверно оценить вклад краевого окрашивания в общую картину.

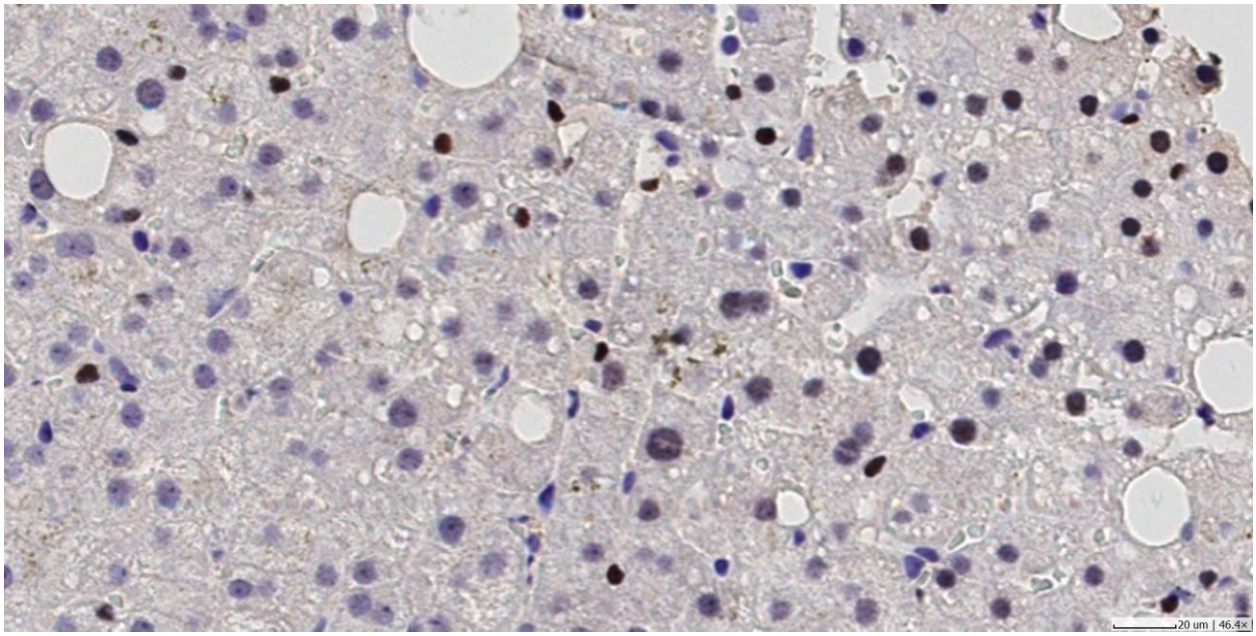


Рисунок 23. Иммуногистохимическое окрашивание биопсий печени пациентов с различными стадиями НАЖБП при помощи антител, специфичных к FXR.

3.4.3. Результаты экспрессии FXR при помощи ПЦР в реальном времени

Далее для оценки экспрессии в набранной выборке биоптатов печени проанализирована экспрессия FXR на уровне мРНК методом ПЦР в реальном времени, количество полученных биоптатов – 60.

В выборке из 60 пациентов, уровень экспрессии FXR не различался между тремя исследуемыми группами (пациенты без НАЖБП, со стеатозом и НАСГ (рис.24).

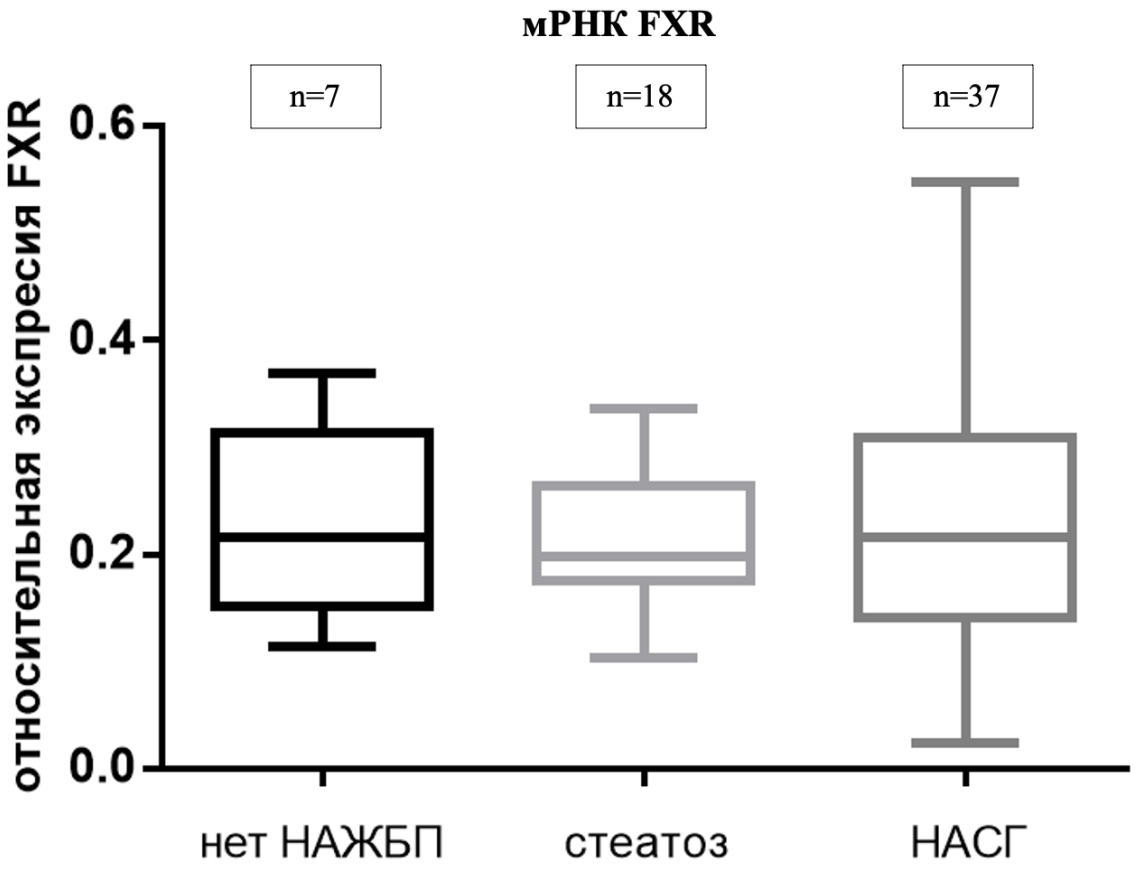


Рисунок 24. Уровень относительной экспрессии мРНК NR1H4 (FXR) в группах пациентов с различными стадиями НАЖБП.

В то же время, у ряда пациентов с НАСГ наблюдался атипично высокий (по сравнению с межквартильным диапазоном во всех трех группах) уровень относительной экспрессии FXR. Эти пациенты не вносили существенного вклада в изменение среднего значения экспрессии FXR (и, соответственно, не приводили к значительным межгрупповым различиям). Тем не менее, это позволило нам выделить в группе пациентов с НАСГ подгруппы с высокой и низкой экспрессией FXR.

При анализе связи экспрессии FXR в образцах биопсии печени с клиническими и лабораторными параметрами у пациентов с НАСГ обнаружена статистически значимая связь экспрессии мРНК FXR в печени с

сывороточным ИРИ (коэффициент корреляции 0,44, p = 0,022, P_0=0,025) (рис. 25). Биологическое и клиническое значение обнаруженного явления требует дальнейшего изучения. При анализе выборки пациентов с НАСГ после дихотомизации ее по экспрессии FXR (группы с высокой и низкой экспрессией) мы не обнаружили значительных различий в изученных клинических и лабораторных параметрах между группами.

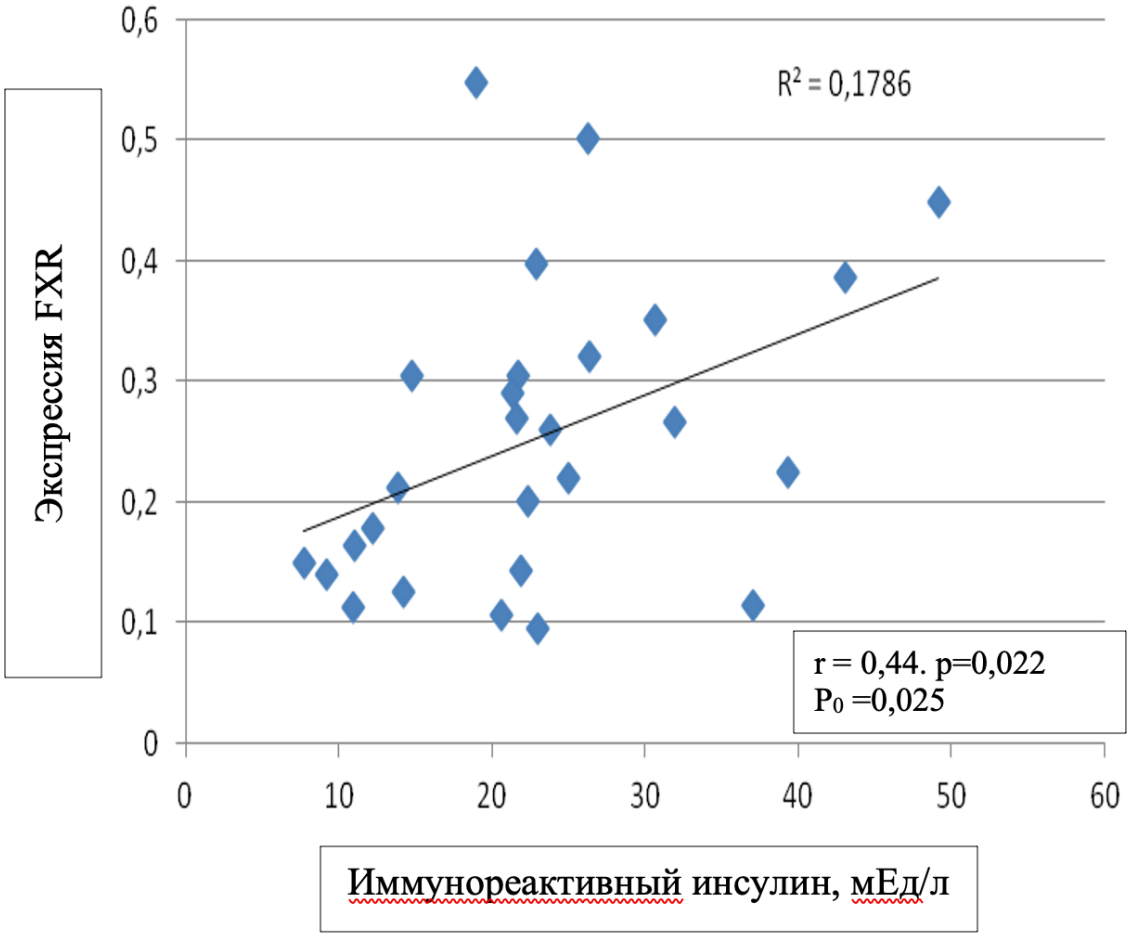


Рисунок 25. Анализ корреляции между экспрессией FXR (ось ординат) и уровнем иммунореактивного инсулина (ось абсцисс) у пациентов с НАСГ.

Была также изучена возможная связь между экспрессией FXR и выраженностью ИР (М-индекс), однако ассоциации между данными параметрами выявлено не было.

3.4.4. Результаты экспрессии толл-подобных рецепторов и провоспалительных цитокинов

Поскольку воспаление, сопровождающее прогрессию НАЖБП, может быть связано с сигналингом толл-подобных рецепторов, нами было проведено исследование экспрессии этих рецепторов, а также провоспалительных цитокинов в пробах печени пациентов. Для планирования экспериментов нами была оценена экспрессия всех толл-подобных рецепторов человека по данным консорциумов FANTOM5, Human Protein Atlas (HPA) и Genome-based Tissue Expression (GTEx), взятым из базы данных Protein Atlas (https://www.proteinatlas.org/). Было показано, что в нормальной ткани печени на детектируемом уровне экспрессируются TLR1, TLR2, TLR3 и TLR4, тогда как экспрессия остальных молекул наблюдается на очень низком уровне (табл. 50).

Таблица 50. Экспрессия Толл-подобных рецепторов в ткани печени, согласно данным транскриптомного анализа.

	HPA	GTEx	FANTOM5
TLR1	4,5	0,4	8,2
TLR2	3,8	2,7	NA
TLR3	7,7	0,8	13,6
TLR4	9,6	1,5	28,6
TLR5	0,8	0,4	1,9
TLR6	1	0,2	0,4
TLR7	0,3	0	1,4
TLR8	1,1	0,1	7,2
TLR9	0	0,6	NA
TLR10	0,2	0	0,4

Примечания: HPA - Human Protein Atlas
GTEx - Genome-based Tissue Expression

Поскольку TLR1 и TLR2 формируют гетеродимер, нами было принято решение взять в исследование один из рецепторов, а именно TLR2. Была проведена полуколичественная оценка экспрессии некоторых представителей

TLR (TLR2-4). Для этого проводили ПЦР в реальном времени с параметрами программы, аналогичными таковым для анализа экспрессии NR1H4: нагревание до 95 °C (10 мин.), 40 циклов амплификации: 95 ° C – 20 сек., 60 ° C – 20 сек. и 72 ° C – 20 сек., финальная элонгация при 72 °C в течение 10 минут. Относительную экспрессию TLR2-4 определяли с использованием метода ΔΔCt и нормализована на уровень экспрессии β-актина. Сиквенсы олигонуклеотидных праймеров для амплификации были следующими:

TLR2-Fwd GAAAGCTCCCAGCAGGAACATC

TLR2-Rev GAATGAAGTCCCGCTTATGAAGACA

TLR3-Fwd GGACTTTGAGGCGGGTGTT

TLR3-Rev TGTTGAACTGCATGATGTACCTTGA

TLR4-Fwd TGCGTGGAGGTGGTTCCTA

TLR4-Rev GGCTCTGATATGCCCCATCT

TNF-Fwd CTGCACTTTGGAGTGATCGG

TNF-Rev TGAGGGTTTGCTACAACATGG

IL6-Fwd AACAACCTGAACCTTCCA

IL6-Rev GCTTGTTCCTCACTACTCTC

Был проведен анализ экспрессии трех Толл-подобных рецепторов - TLR2, TLR3, TLR4, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в пробах печени больных НАЖБП различных стадий (стеатоз и НАСГ) и контрольных пробах методом количественного ПЦР (рис.26). Экспрессия всех Толл-подобных рецепторов увеличивается в ходе прогрессии заболевания. Статистически значимые различия наблюдаются между группой с НАСГ и контролем для всех исследуемых рецепторов. В то же время, различия между двумя стадиями НАЖБП, НАСГ и стеатозом, являются статистически значимыми для TLR3 и TLR4; в случае TLR2 такая тенденция прослеживается, однако не является статистически значимой.

Статистически значимых различий между уровнями экспрессии провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах печени пациентов НАЖБП и контрольными пробами показать не удалось (рис.27). Для TNF

такая тенденция прослеживается, однако большой разброс значений относительной экспрессии не позволяет считать результаты статистически значимыми.

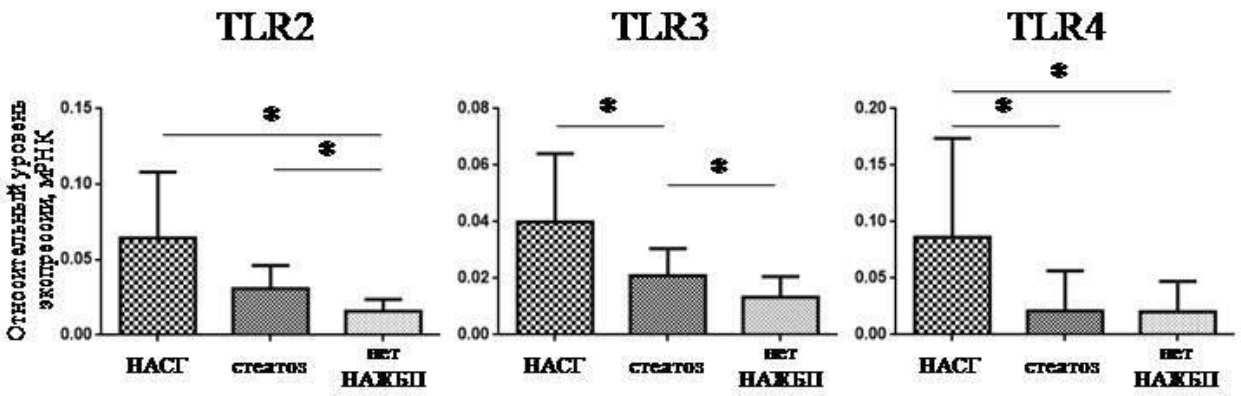


Рисунок 26. Уровень относительной экспрессии мРНК толл-подобных рецепторов TLR2, TLR3, TLR4 в биоптатах печени с НАЖБП (НАСГ, n=10, стеатоз, n=10) и контрольных образцах (n=4). *p<0.05 по U-критерию Манна-Уитни.

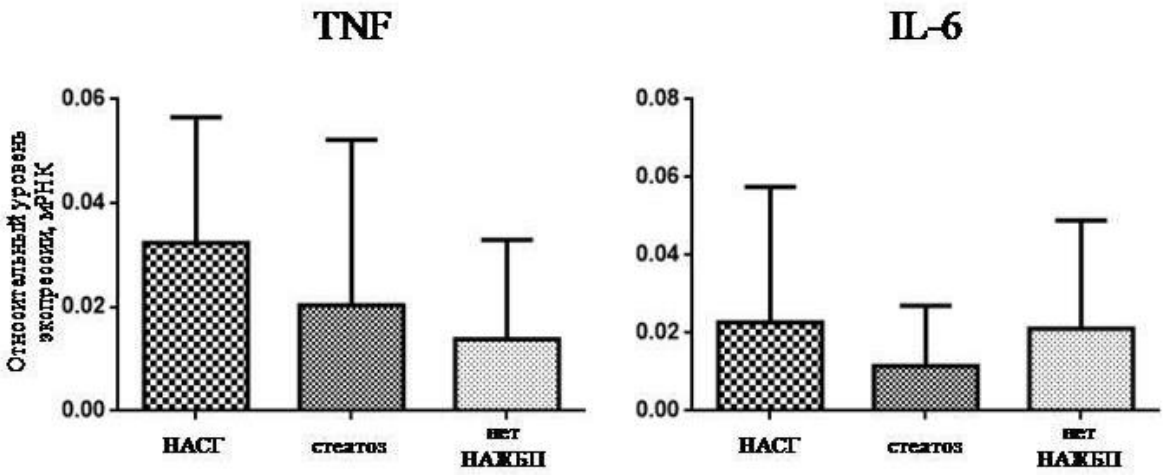


Рисунок 27. Уровень относительной экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах печени с НАЖБП (НАСГ, n=10, стеатоз, n=10) и контрольных образцах (n=4). *p<0.05 по U-критерию Манна-Уитни.

Далее были исследованы факторы, которые ассоциированы с повышенной экспрессией толл-подобных рецепторов в клетках печени больных с НАЖБП. Корреляция наблюдалась между параметрами,

указывающими на степень поражения печени (процент стеатоза, наличие баллонной дистрофии), и экспрессией нескольких толл-подобных рецепторов. Уровень экспрессии толл-подобных рецепторов и провоспалительных цитокинов коррелируют между собой. Также была отмечена корреляция между повышенным содержанием мочевой кислоты в сыворотке крови и экспрессией изучаемых молекул (табл. 51).

Таблица 51. Корреляция между экспрессией мРНК анализируемых Толл-подобных рецепторов и провоспалительных цитокинов, клиническими, морфологическими параметрами (коэффициенты корреляции Спирмана, *p<0.05).

	TLR2	TLR3	TLR4	TNF	IL-6
TLR2	1	0,87*	0,77*	0,75*	0,52*
TLR3	0,87*	1	0,76*	0,70*	0,49*
TLR4	0,77*	0,76*	1	0,87*	0,68*
TNF	0,75*	0,70*	0,87*	1	0,74
IL-6	0,52*	0,49*	0,68*	0,74*	1
Мочевая кислота	0,47*	0,44*	0,34*	0,37	0,51*
% стеатоза (по Brunt)	0,46*	0,45*	0,08	0,07	-0,21
Баллонная дистрофия	0,52*	0,53*	0,37*	0,24	-0,02
Баллы по NAS	0,44*	0,50*	0,22	0,18	-0,05

Примечания:
TLR2 - толл-подобный рецептор 2; TLR3 - толл-подобный рецептор 3; TLR4 - толл-подобный рецептор 4; TNF – фактор некроза опухоли; IL-6 –интерлейкин-6; NAS – NAFLD activity score – шкала активности НАЖБП

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является самым распространенным хроническим заболеванием печени, которым страдает 25% взрослого населения. Данное заболевание повышает смертность как от печеночных причин (цирроз, гепатоцеллюлярный рак), так и от внепеченочных, таких как сердечно-сосудистые заболевания. Уже в течение длительного времени известно, что ожирение является одним из основных факторов риска развития НАЖБП и сахарного диабета 2 типа (СД2) и усиливает инсулинорезистентность (ИР). Последняя является основным

патогенетическим звеном СД2 и НАЖБП. Довольно трудно установить является ли ИР причиной или следствием НАЖБП, однако важно понимать их взаимосвязь. В нашей работе мы поставили цель оценить вклад ИР в прогрессирование НАЖБП. В ходе исследования была оценена ИР у пациентов с различными формами НАЖБП, так и у пациентов без НАЖБП. Также мы оценили вклад влияния параметров гликемии на тяжесть течения НАЖБП.

В последнее время существует мнение о том, что печень, жировая ткань, клетки скелетной мускулатуры секретируют в норме и при патологическом состоянии молекулы, способные оказывать влияние на метаболизм глюкозы, ИР, морфологические изменения при НАЖБП. Белково-секреторная функция нарушается при развитии стеатоза, а данные нарушения приводят к ухудшению работы инсулина и активации провоспалительных путей, таким образом влияя на развитие ИР. В нашей работе нами была поставлена задача изучить профиль органокинов, а в частности гепатокинов в ходе прогрессии НАЖБП, а также при различных вариантах нарушения углеводного обмена и разной степени ИР.

Учитывая взаимосвязь НАЖБП, СД2 и ИР, их общие патогенетические механизмы, последнее десятилетие охарактеризовано активным поиском эффективных методов лечения НАЖБП. Терапия заболевания направлена на профилактику прогрессирования заболевания печени, снижение кардиометаболических факторов риска. Бесспорным и эффективным остается влияние снижения массы тела на течение НАЖБП. Как было показано, степень снижения массы тела ассоциирована со степенью улучшения гистологических параметров печени [161]. Что же касается фармакотерапии, то этот вопрос все еще остается дискутабельным и в настоящий момент проводятся различные исследования для поиска эффективного препарата для лечения НАЖБП. На сегодня исследования направлены на разные патогенетические пути: чувствительность к инсулину, глюконеогенез, липогенез, апоптоз, окислительный стресс, воспаление, разрушение компонентов

экстрацеллюлярного матрикса и фиброз [34]. Учитывая наличие коморбидных состояний у пациентов, оптимальное лечение должно оказывать влияние на патогенетические пути, задействованные в развитии НАЖБП, оптимизировать экономические затраты и обладать высоким профилем безопасности. В настоящее время отдельным пациентам рекомендуется использовать только витамин Е и пиоглитазон, как препараты с доказанным положительным влиянием на морфологические изменения при НАЖБП, но рекомендуется соблюдать некоторую осторожность из-за потенциальных нежелательных побочных эффектов этих препаратов. В нашей работе мы впервые в РФ исследовали экспрессию фарнезоидных Х рецепторов (FXR), агонисты которых в настоящее время проходят исследования по влиянию на течение НАЖБП, ИР и углеводный обмен. Также нами была оценена работа врожденного иммунитета в виде оценки экспрессии рецепторов врожденного иммунитета, реагирующими в ответ на факторы патогенности и факторы стресса, в ходе прогрессии заболевания.

На популяционном уровне большинство пациентов с НАЖБП имеют стеатоз, который не прогрессирует в более тяжелые стадии. И даже те пациенты, у которых выявлены факторы риска к прогрессированию, которым проведена биопсия печени, только у меньшинства из них будет диагностирован фиброз [162]. Однако именно эта группа пациентов будет иметь более тяжелые отдаленные результаты. Выявление этой группы пациентов с высоким риском развития фиброза является основной задачей оказания медицинской помощи данной когорте пациентов.

Золотым стандартом диагностики НАЖБП остается биопсия печени под ультразвуковым контролем, однако данный метод имеет ряд ограничений: инвазивность, высокая стоимость, вариабельность срезов, сложность в динамическом контроле пациентов с фиброзом. Поэтому мировое сообщество нацелено на поиск неинвазивных методик и маркеров.

В нашей работе для оценки наличия НАЖБП использовались следующие визуализирующие методы исследования – УЗИ органов брюшной

полости и эластография сдвиговой волны. В клинической практике наиболее часто используется метод УЗИ, являясь наиболее дешевым и доступным методом. В мета-анализе [163] чувствительность и специфичность УЗИ в выявлении стеатоза составили 85% (80–89%) и 94% (87–97%) соответственно, метод сравнивался с биопсией печени. Однако методика имеет и ограничения – стеатоз выявляется, когда его процент выше 12,5–20, точность снижается у пациентов с ожирением, а также зависит от специалиста. Мы использовали данную методику для выявления стеатоза, а также для исключения объемных образований печени.

Для оценки выраженности фиброза была использована методика эластографии сдвиговой волны. Исходя из литературных данных, наиболее используемый и изученный метод эластографии – транзиентная эластография, сопоставим с эластографией сдвиговой волны, который освещен намного меньше в литературе. По данным метаанализа [164] эластография сдвиговой волны обладает приемлемой диагностической точностью для выраженного фиброза и цирроза печени. Потенциальное клиническое значение этих методов не может быть полностью оценено ввиду отсутствия валидированных пороговых значений.

Согласно дизайну нашего исследования, всем пациентам, включенным в исследование проведена пункционная биопсия печени с целью подтверждения или опровержения диагноза НАЖБП, а также для уточнения стадии. После проведения пункционной биопсии печени и изучения морфологической картины, у 72 (83%) пациентов диагностирована НАЖБП: у 23 (26%) пациентов выявлены признаки стеатоза, а у 49 (56%) пациентов диагностирован НАСГ, из них у 5 признаки фиброза F3-4 по Metavir.

Полученные данные эластографии сдвиговой волны подтверждены гистологическим исследованием - степень фиброза по данным эластографии коррелирует со степенью фиброза по Metavir по данным гистологического исследования ($r=0,53$, $p<0,0001$).

Распространенность ИР, ожирения, СД2 и НАЖБП тесно связаны [165], [166]. Одной из задач нашего исследования была оценка выраженности ИР у пациентов с НАЖБП и без нее и показать вклад ИР в прогрессирование заболевания. В ходе анализа данных по электронно-поисковым системам найдено небольшое количество исследований, которые использовали бы в ходе исследования такие методы, как клэмп-тест и биопсию печени. Исследуемой проблемой начали интересоваться еще в 2001г. [167], когда на выборке из 30 пациентов с НАЖБП без ожирения и СД2 была оценена ИР методом эугликемического клэмп-теста и было показано, что НАЖБП характеризуется значительным снижением чувствительности к инсулину и снижением эффекта инсулина на метаболизм глюкозы и липидов. В данном исследовании выявлено, что феномен ИР распространился и на пациентов с нормальной массой тела и отсутствием нарушения углеводного обмена. Метод эугликемического клэмпа остается золотым стандартом для количественного измерения чувствительности к инсулину [168], который и был использован в нашем исследовании. В 2005 г. Бугианеси и соавт. [169] поставили цель определить является ли резистентность к инсулину самостоятельным признаком НАЖБП, и какое из действий инсулина in vivo нарушается при этом состоянии. Они сделали заключение, что у пациентов без ожирения и без диабета с подтвержденной по данным биопсии НАЖБП, отмечается резистентность к инсулину и вовлекает печень и периферические (жировая и скелетная мускулатура) ткани и множественные внутриклеточные пути утилизации субстратов (глюкозы и липидов). Стеатоз является следствием периферической резистентности к инсулину или вызывает резистентность к инсулину, остается неясным, но результаты этого исследования предполагают, что избыточный поток NEFA из-за ИР может способствовать стеатозу печени. Резистентность жировой ткани к инсулину и гиперактивность эндокринной системы, особенно в эктопических депо, могут быть характерными чертами метаболического профиля при НАЖБП. Данное исследование обладало

ограниченной выборкой - 12 человек и не ставило цель вклада ИР в прогрессию НАЖБП.

Еще одно исследование А.Саньяла [27] было проведено с использованием клэмп-теста и биопсии печени. В исследование включено 6 пациентов со стеатозом, 6 пациентов с НАСГ и 6 субъектов – группа контроля. На основании 2-этапного клэмп-теста получены следующие результаты - скорость утилизации глюкозы во время проведения клэмпа была снижена в обеих этих группах (стеатоз и НАСГ) по сравнению со здоровыми субъектами. Исходные показатели окисления углеводов были снижены, а окисление липидов повышено у пациентов с НАСГ по сравнению с пациентами со стеатозом. Сделан вывод о большей ИР у пациентов с НАСГ.

Таким образом имеются данные одного исследования о вкладе ИР в прогрессирование НАЖБП.

В нашей выборке пациентов мы выявили во всех исследуемых группах разную степень выраженности ИР. Выявленные статистически значимые различия в исследуемых группах по данным М-индекса ($p<0,001$) и по данным HOMA-IR ($p<0,001$) позволяют нам сделать вывод о безусловном вкладе ИР в развитие и прогрессирование НАЖБП. Также это подтверждается наличием взаимосвязи между показателем сывороточного ИРИ и степенью гистологической активности ($r=0,44$, $p=0,000017$); ИРИ и баллонной дистрофией ($r=0,45$, $p=0,000011$); HOMA-IR и степенью гистологической активности ($r=0,42$, $p=0,000042$); HOMA-IR и баллонной дистрофией ($r=0,40$, $p =0,000109$).

НАЖБП и СД2 объединяют общие кардиометаболические факторы риска, провоспалительные и профибротические пути [170]. Распространенность коморбидных состояний с НАСГ опубликована в мета-анализе: ожирение – 82%, дислипидемия – 72%, 71% - метаболический синдром, 68% - артериальная гипертензия, 44; - СД2 [171]. По данным литературы [172] пациенты с СД2 также часто имеют НАЖБП и более высокий риск развития НАСГ, предполагая двунаправленное взаимодействие

факторов риска между НАЖБП и СД2. По данным последнего систематического обзора [171] глобальная распространенность НАЖБП среди пациентов с СД2 составляет 55.48% (95% CI 47.26–63.67%). Распространенность НАСГ среди пациентов с СД2 составляет 37,33% (95% CI 24.74–49.93), а фиброза - 17.02% (95% CI 7.29–34.86) у пациентов с СД2.

В 2016г. Cusi и сооавторы опубликовали статью [173], посвященную метаболическому вкладу НАСГ у пациентов с СД2 и ожирением. Преимуществом данного исследования над многими другими выступало использование современных метаболических измерений, включая количественное определение внутрипеченочных триглицеридов (H-MRS), а также морфологическое исследование печеночного биоптата. Основной целью данного исследования служила связь НАСГ и худшего метаболического контроля по сравнению с изолированным стеатозом. Таким образом был сделан вывод о том, что развитие и прогрессирование заболевания печени у пациента с СД2 связаны с более выраженной резистентностью к инсулину.

В нашей работе при оценке влияния нарушения углеводного обмена (или его отсутствия) на степень развития НАЖБП до более тяжелых стадий был проведен сравнительный анализ распространенности нарушений углеводного обмена среди пациентов без НАЖБП, со стеатозом и НАСГ, статистически значимых различий не выявлено (p=0,173), что говорит об одинаковой распространенности нарушений углеводного обмена среди исследуемых групп. Таже проведен сравнительный анализ по параметрам углеводного обмена, таким как глюкоза плазмы натощак и гликированный гемоглобин, статистически значимые различия не выявлены по показателю глюкозы (p=0,087) и по показателю гликированного гемоглобина (p=0,120), данная находка противоречит данным литературы. Причиной этого, вероятнее всего, стала группа пациентов с СД2, который был впервые выявленным сахарным диабетом, и стоит предположить, что метаболические изменения у данной группы пациентов еще являются начальными и мало отличаются от группы пациентов с НТГ/НГН. Это можно расценить как ограничение в

исследовании, так и его преимущество ввиду того, что клэмп-тест у нашей выборки пациентов проводился на «чистом фоне», без влияния сахароснижающих препаратов. В исследовании Cusi группы пациентов с СД уже находились на различной сахароснижающей терапии, в том числе на инсулинотерапии.

Также наша исследовательская работа была направлена на поиск неинвазивных маркеров НАЖБП. Как было описано выше, печенью, жировой тканью, скелетной мускулатурой выделяются различные молекулы, которые могут оказывать влияние как на возникновение заболевания, так и на его прогрессию. При выполнении сравнительного анализа мы выявили различия на уровне статистических тенденций (p=0,045) по показателю гепатоцитарного фибриногенподобного белка-1 (гепассоцина) – в группе пациентов со стеатозом выше показатель 13,39 [7,96; 18,43] нг/мл, чем в группе пациентов с отсутствием НАЖБП 7,88 [5,99; 10,55] нг/мл. При проведении корреляционного анализа выявлено, что уровень гепатоцитарного фибриногенподобного белка-1 коррелирует с показателями фиброза (Metavir) (r=0,3, p=0,004164), (Ishak) (r=0,39, p=0,000191). Наличие тенденции может быть объяснено малым количеством пациентов с фиброзом. Для клинической практики данный параметр не будет иметь ожидаемого значения ввиду наличия более экономически выгодных методов диагностики НАЖБП на уровне стеатоза. Эти данные сопоставимы с данными литературы – в исследовании 2013г. [99], в котором была найдена более высокая концентрация гепатоцитарного фибриногенподобного белка-1 у пациентов с НАЖБП, чем без НАЖБП. Однако недостатком данного исследования было то, что диагноз был поставлен на основании УЗИ. Это позволяет предположить, что в группе пациентов «НАЖБП» были как пациенты со стеатозом, так и пациенты с НАСГ, таким образом в указанной статье не проводился анализ между группами стеатоза и НАСГ.

Что же касается показателя гиалуроновой кислоты, то при проведении сравнительного анализа показана разница на уровне тенденции (p=0,010) в

группе пациентов с НАСГ 23,78 [16,93; 34,74] нг/мл выше показатель гиалуроновой кислоты, чем в группе пациентов со стеатозом 14,49 [9,28; 22,89] нг/мл. Данное заключение сопоставимо с литературными данными [174]. Также выяснено, что при прогрессировании НАЖБП до уровня фиброза, также получены более высокие значения фиброза. Эти данные являлись результатами многочисленных исследований. Гиалуроновая кислота является компонентом коммерческих панелей фиброза, таких как FibroMeterV2G (для расчета применяются показатели АСТ, мочевины, тромбоцитов, протромбинового индекса, а-2-макроглобулина, гиалуроновой кислоты, возраста и пола), ELF (enhanced liver fibrosis test) состоит из 3 компонентов: гиалуроновой кислоты, пептида проколлагена III типа (PIIINP) и тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (TIMP1). Диагностическая точность коммерческих панелей для диагностики фиброза достаточна, но их широкое применение на практике ограничено высокой стоимостью и незначительной доступностью. При проведении корреляционного анализа получена статистически значимая (r=0,4, p=0,000118) положительная умеренная корреляция индекса гистологической активности и гиалуроновой кислоты. Учитывая то, что гиалуроновая кислота служит маркером фиброза мы получили соответствующие корреляции по гистологическим параметрам: фиброз, определенный по методам Metavir (r=0,36) и Ishak (r=0,26), коррелирует с показателем гиалуроновой кислоты (положительная умеренная корреляция) на уровне статистической тенденции (p=0,000649 и p=0,016328 соответственно). У обследованных нами пациентов уровень гиалуроновой кислоты повышался при прогрессировании воспаления в печени: при стеатозе печени уровень гиалуроновой кислоты составил 14,49 [9,28; 22,89] нг/мл, НАСГ – 23,78 [16,93; 34,74] нг/мл. Однако, не было статистически значимой разницы между группой «без НАЖБП» и «НАСГ», что может быть ввиду небольшой группы пациентов «без НАЖБП» и возможно полученные данные могут свидетельствовать о необходимости комплексного обследования на предмет возможности прогрессирования НАЖБП.

В нашей работе выявлено, что в группе пациентов с НАСГ выше показатель лептина 16,35 [8,86; 37,31] нг/мл, чем в группе пациентов со стеатозом 7,07 [4,91; 21,94] нг/мл (p=0,036). Полученные данные соответствуют литературным данным - обсервационные клинические исследования показали более высокие или аналогичные уровни лептина в группах с простым стеатозом или НАСГ по сравнению с контрольной группой [175]. Однако значимых корреляций между гистологическими параметрами и лептином не выявлены.

Также различия на уровне тенденции найдены по показателю бетатрофина (ангиопоэтинподобного белка-8) (p=0,047) – показатель в группе стеатоза 8,188 [0,489; 23,560] нг/мл больше, чем в группе НАСГ 1,043 [0,509; 2,420]. Накопленный опыт исследования данного параметра очень мал, и литературные данные противоречивы. В исследовании 2016г. [176] показано, что у пациентов с НАЖБП повышен показатель бетатрофина, однако ограничением исследования была методика постановки диагноза НАЖБП – диагноз ставился на основании УЗИ брюшной полости и КТ брюшной полости, соответственно не было разделения НАЖБП на формы. Однако другой противоречивый результат, опубликованный Cengiz et al. [177] показали, что уровни ANGPTL-8 в сыворотке коррелируют с фиброзом и воспалением печени и значительно снижаются у пациентов с НАЖБП. Что касается корреляционного анализа, то корреляций с морфологическими показателями печени не выявлено.

Рассматривая один из главных адипоцитокинов – адипонектин, предполагалось, что мы найдем различия в группах без НАЖБП, стеатоз и НАСГ, показатели 8,05 [4,92; 10,05] мкг/мл, 6,71 [4,82; 7,44] мкг/мл, 5,71 [4,93; 7,58] мкг/мл соответственно, имеют тенденцию к снижению по мере прогрессирования заболевания, однако разница оказалась статистически незначимой (p=0,089). Рассматривая корреляционные взаимосвязи между адипонектином и морфологическими показателями, то выявлена отрицательная умеренная корреляция между фиброзом (Ishak) (r=-0,26,

p=0,015442), фиброзом (NAS) (r=-0,21, p=0,049897) и адинонектином, лобулярным воспалением (r=-0,25, p=0,019377) и адипонектином, все корреляции на уровне тенденций. По данным литературы адипонектин обладает противовоспалительными свойствами, повышает окисление свободных жирных кислот и поглощение глюкозы скелетной мускулатурой, ингибирует печеночный глюконеогенез [178]. Таким образом данный органокин обладает антистеатотическими, антифибротическими и противовоспалительными свойствами.

Снижение уровня адипонектина напрямую связано с ИР. Его уровень снижается параллельно возрастанию провоспалительных цитокинов. Помимо того, что способствует воспалению, он индуцирует термогенез и окисление жирных кислот в скелетной мускулатуре и печени. Таким образом, адипонектин можно считать защитным адипокином. Его уровни находятся в обратной зависимости от ИР и ниже у лиц с ожирением и у больных с СД2 и НАСГ [179].

Изучение показателя резистина – еще одного адипоцитокина, было частью нашего исследования. Резистин является важным провоспалительным адипокином и роль сывороточных значений резистина у пациентов с НАЖБП остается спорной. Результаты первого систематического обзора [180], посвященного показателю резистина при НАЖБП, показывают, что пациенты с НАЖБП (стеатоз+НАСГ) имеют более высокие уровни резистина в сыворотке, чем контрольная группа, но пациенты с НАСГ имеют более низкие уровни резистина в сыворотке, чем здоровые добровольцы. Принимая во внимание указанные результаты, диагностическая чувствительность и специфичность должны быть улучшены за счет исключения влияния других факторов. Дальнейшие исследования должны быть проведены для уточнения показателя резистина в сыворотке здоровых людей и пациентов с НАЖБП, диагностированной на основании биопсии печени.

При исследовании показателя сывороточного резистина мы не получили разницы показателя между группами без НАЖБП, стеатоз, НАСГ. Однако мы

выявили отрицательную умеренную корреляцию между показателем фиброза (NAS) (r=-0,22, p=0,044198), фиброза (Ishak) (r=-0,26, p=0,014106) и резистина, а также между показателем лобулярного воспаления (r=-0,25, p=0,017564) и резистином. Указанные корреляции на уровне тенденции. Таким образом, наши результаты соответствуют части исследований [181], в которых уровень резистина не имеет значимой разницы между группами. Что же касается фиброза, то Tsochatzis et al. [182] обнаружили, что низкие уровни резистина были связаны с умеренным/тяжелым фиброзом у пациентов с хроническим гепатитом B/C, что предполагает отрицательную связь уровней резистина в сыворотке со степенью фиброза. Остается неизвестным, влияет ли причина фиброза на связь уровней резистина в сыворотке с фиброзом, и для ее выяснения необходимы дальнейшие исследования.

При проведении анализа показателя PIIINP (N-терминальный пропептид проколлагена III типа) — белка, представляющего собой ранний маркер ремоделирования тканей и фиброза, не выявлено различий при прогрессировании НАЖБП, что может быть связано с маленьким количеством пациентов с фиброзом.

Ангиопоэтинподобный белок-4 у пациентов с НАЖБП изучался совсем в небольшом количестве исследований [183]. Ограничением данного исследования являлось метод диагностики НАЖБП – ультразвуковой метод. Показано, что у пациентов со стеатозом сниженный уровень ангиопоэтинподобного белка-4 по сравнению с контрольной группой. По нашим результатам уровень ангиопоэтинподобного белка-4 обратно коррелирует с показателем фиброза (NAS) (r=-0,27, p=0,010005) и индексом гистологической активности (r=-0,24, p=0,024242).

В 2021г. опубликован первый систематический обзор [184], включавший 21 исследование, посвящен уровню висфатина у пациентов с НАЖБП на разных стадиях. В обзоре сформирован вывод о том, что уровень сывороточного висфатина не ассоциирован с наличием НАЖБП, тяжестью стеатоза, фиброза, лобулярным воспалением, НАСГ. В нашем же

исследовании продемонстрировано, показатель висфатина имеет отрицательную корреляцию с показателем фиброза (r=-0,28, p=0,009328).

По литературным данным циркулирующий уровень FGF21 коррелирует с тяжестью печеночного стеатоза и может свидетельствовать о прогрессировании НАЖБП [72]. Мы подобных данных не получили, однако при корреляционном анализе отмечается положительная умеренная корреляция индекса гистологической активности и FGF21 (r=0,25, p=0,020038).

В нашей работе мы исследовали уровень цитокератина-18, признанного предиктора диагноза НАСГ [185]. Однако мы не получили разницы показателя между группами без НАЖБП, стеатоза, НАСГ. Причина может быть в недостаточной выборке пациентов. При проведении корреляционного анализа получена взаимосвязь на уровне тенденции между показателем фиброза (Metavir) и цитокератина-18 (r=-0,25, p=0,017971), между показателем фиброзом (Ishak) и цитокератина-18(r=-0,29, p=0,007437). Данные тенденции подтверждают литературные данные.

Таким образом, не существует высокочувствительных и специфических тестов, позволяющих дифференцировать НАСГ от простого стеатоза. Однако точность диагностики можно повысить, комбинируя биомаркеры крови. Необходимы дополнительные исследования, прежде чем прогностические модели и сывороточные биомаркеры станут доступны для рутинной клинической помощи.

В область наших интересов входило изучение взаимосвязей органокинов с показателями углеводного обмена, ИР.

При анализе уровня лептина у пациентов с разной выраженностью степени ИР и у пациентов с различными нарушениями углеводного обмена или без них мы не получили статистически значимых различий между группами. Однако удалось выявить ряд статистически значимых корреляций - положительная умеренная корреляция между показателями ИМТ и лептином (r=0,59, p<0,00001), ОБ и лептином (r=0,47, p=0,000005), %жира и лептином

(r=0,51, p<0,00001), креатинином и лептином (r=-0,53, p<0,00001). Положительную умеренную корреляцию обнаружили между ИРИ и лептином (r=0,31, p=0,003520). Положительную слабую корреляцию удалось установить между HOMA-IR и лептином (r=0,23, p=0,032359). Что же касается М-индекса – показателя, определяющего ИР по методу эугликемического гиперинсулинемического клэмп-теста, то с ним показатель лептина не коррелировал. Учитывая тот факт, что показатель HOMA-IR и М-индекс коррелируют друг с другом, то стоит предположить, что большая выборка привела бы к более достоверным результатам. Остальные полученные результаты соотносятся с немногочисленными данными литературы по данной тематике [186].

При анализе ангиопоэтинподобного белка-4 мы выявили статистически значимую разницу в группах нарушений углеводного обмена. Показатели ангиопоэтинподобного белка-4 ниже в группе предиабета и СД2, чем в группе без нарушений углеводного обмена. Подобных литературных данных нам найти не удалось. При проведении корреляционного анализа выяснено, что показатель ангиопоэтинподобного белка-4 обладает отрицательной умеренной корреляцией с HOMA-IR (r=-0,26, p<0,015851) и отрицательной слабой корреляцией с ИРИ (r= -0,24, p=0,027438). Данные находки могут свидетельствовать о вкладе ангиопоэтинподобного белка-4 в углеводный обмен.

Нарушения в профилях адипоцитокинов могут способствовать периферической ИР и нарушению выработки инсулина, которые являются двумя основными патофизиологическими механизмами, участвующими в развитии СД2. Предыдущие исследования по измененным профилям адипоцитокинов привели к неоднозначным результатам; поэтому мы провели текущее исследование, сравнивая концентрации лептина, резистина и адипонектина у пациентов без нарушения углеводного обмена, с предиабетом, с впервые выявленным СД, так же нас интересовал факт наличия разницы в этих показателях между группами пациентов с разной степенью ИР. На

основании полученных данных выявлено снижение уровня адипонектина и резистина в ходе прогрессирования нарушения углеводного обмена, и в ходе увеличения степени ИР. Различия по показателю адипонектина на уровне статистической тенденции были выявлены между группой пациентов с сахарным диабетом 5,23 [4,57; 6,71] мкг/мл и пациентами без нарушений углеводного обмена 8,03 [5,33; 9,85] мкг/мл. Различия по показателю адипонектина на уровне статистической тенденции были выявлены между группой пациентов без ИР 9,78 [8,17; 10,04] мкг/мл и группой пациентов с тяжелой степенью ИР 5,34 [4,82; 6,71] мкг/мл. При проведении корреляционного анализа выявлены корреляции на уровне тенденции: М-индекс и адипонектин (r= 0,31, p=0,003508), HOMA-IR и адипонектин (r= -0,33, p=0,001750), ИРИ и адипонектин (r= -0,28, p=0,0088599), С-пептид и адипонектин (r= -0,26, p=0,015628), глюкоза и адипонектин (r= -0,28, p=0,007708). Полученные данные соотносятся с данными литературы [187]. Различия по показателю резистина на уровне статистической тенденции были выявлены между группой пациентов с сахарным диабетом 2,47 [2,05; 3,23] нг/мл и пациентами без нарушений углеводного обмена 4,125 [2,48; 5,245] нг/мл. Различия по показателю резистина на уровне статистической тенденции были выявлены между группой пациентов без ИР 5,22 [4,57; 5,33] нг/мл и группой пациентов с тяжелой степенью ИР 2,47 [2,22; 3,23] нг/мл. При проведении корреляционного анализа получены корреляции на уровне статистических тенденций по показателям углеводного обмена и инсулинсекретирующей функции.

Адипоцитокины секретируются жировой тканью и играют важную роль в энергетическом балансе и гомеостазе. Лептин, резистин и адипонектин тесно связаны с СД2, поскольку они влияют как на чувствительность к инсулину, так и на воспаление. Принято считать, что лептин и резистин являются провоспалительными цитокинами, тогда как адипонектин обладает антидиабетическими и противовоспалительными свойствами. Хотя эти адипоцитокины известны уже много лет, их роль в патофизиологии СД2

остается спорной. В нашем исследовании мы продемонстрировали, что уровень адипонектина и резистина уменьшается с увеличением степени ИР и развитием СД2, то есть ухудшением гликемического контроля.

Результаты предыдущих исследований показали, что лептин может быть предиктором ожирения и СД2 [149], [143]; однако концентрация лептина в сыворотке у пациентов с СД2 и ее связь с другими клиническими параметрами (например, ИМТ, концентрацией инсулина и окружностью талии) остаются предметом дискуссий, возможно, из-за различий в методах, используемых для отбора участников исследования. Результаты нашего исследования показали, что уровень лептина не имел достоверных различий в разных группах: у пациентов с нарушениями углеводного обмена и без; у пациентов с различной степенью ИР. Однако вклад лептина в развитие ИР, ожирения остается предположительным ввиду полученных корреляций лептина с ИМТ, ОТ, ОБ, %жира, ИРИ, HOMA-IR.

В 1999г. произошло важное молекулярное открытие – установлено, что желчные кислоты могут передавать сигнал через специфический гормональный рецептор – фарнезоидный X рецептор. Несколькими годами позже, в 2002г., произведен полусинтетический лиганд FXR, который сейчас известен как обетихолевая кислота [188]. Данные о дифференциальной экспрессии FXR между здоровой печенью и НАЖБП, а также между различными формами НАЖБП остаются противоречивыми. Yang и соавт. [189] изучали различие в экспрессии FXR в группах с НАЖБП и без нее и выявили, что и белок, и мРНК FXR подавлялись в печеночной ткани у пациентов с НАЖБП по сравнению с образцами нормальной ткани печени. Стоит обратить внимание на исследование Aguilar-Olivos и соавт. [190], которые проводили сравнение уровня экспрессии FXR в группах больных со стеатозом и НАСГ (без контрольных проб нормальной печени) и выявили необъяснимое несоответствие между уровнем белка FXR и уровнями мРНК в пробах печени с НАЖБП: белок FXR был значительно подавлен в случае НАСГ, тогда как мРНК FXR значительно повышена по сравнению с

образцами печени, демонстрирующими признаки стеатоза. В наших экспериментах мы не обнаружили каких-либо различий в показателях мРНК FXR между группами пациентов без НАЖБП, со стеатозом и НАСГ. Скорее всего, эти различия можно объяснить существенным отличием между контрольными группами образцов (печень пациентов без НАЖБП). Так, в нашем случае были взяты образцы от больных, биопсия печени которых не демонстрировала морфологических признаков НАЖБП, но которые существенно отличались от здоровых лиц, в том числе и по клиническим показателям, таким как ОТ, ОБ, ИМТ, показатели ИР, гликемического контроля). В исследовании же Yang и соавт. использовались пробы печеночной ткани от относительно здоровых пациентов – по показателям ИМТ, показателям ИР, гликемическому профилю, (пациенты перенесли холецистэктомию по поводу желчнокаменной болезни). В исследовании Aguilar-Olivos и соавт. анализа контрольной группы не было.

В нашем исследовании, у ряда пациентов с НАСГ наблюдался атипично высокий уровень экспрессии FXR. Эти пациенты не вносили существенного вклада в изменение среднего значения экспрессии FXR (и, соответственно, не приводили к значительным межгрупповым различиям). Однако это позволило нам выделить в группе пациентов с НАСГ подгруппы с высокой и низкой экспрессией FXR. При анализе связи экспрессии FXR в образцах биопсии печени с клиническими и лабораторными параметрами у пациентов с НАСГ обнаружена статистически значимая связь экспрессии мРНК FXR в печени с ИРИ (коэффициент корреляции 0,44, $p = 0,022$). Биологическое и клиническое значение обнаруженного явления требует дальнейшего изучения. Стоит предположить, что именно данная когорта пациентов может отвечать на лечение агонистами FXR, которые сейчас проходят различные стадии клинических испытаний.

Одной из задач исследования была изучение возможной связи между экспрессией FXR и выраженностью ИР (М-индекс, HOMA-IR), и параметрами углеводного обмена, однако никакой ассоциации между

данными параметрами найти не удалось. Рассматривая данные клинических исследований, получены неоднозначные результаты. В исследовании FLINT [150] зарегистрировано улучшение чувствительности к инсулину на фоне лечения Обетихолевой кислотой по данным клэмп-теста. По промежуточным данным исследования REGENERATE [149] отмечается минимальное повышение уровня HbA1c у участников с СД на фоне лечения обетихолевой кислотой.

На основании проведенных и продолжающихся исследований агонистов FXR показан уникальный пример фармакологического препарата с подтвержденным гистологическим антифибротическим эффектом у пациентов с НАСГ. Эффективность агонистов FXR в качестве самостоятельной терапии ограничена дозозависимыми побочными эффектами. В настоящее время исследуется эффективность комбинации агониста FXR со статинами, двойным антагонистом CCR2/5 (Сеникривирок), который обладает потенциальным противовоспалительным и антифибротическим эффектом. Индивидуальный подход к диагностике и лечению позволит разработать терапию пациентов с использованием комбинации лекарств, действующих на разные молекулярные механизмы.

Помимо их традиционной роли в качестве детергентов, облегчающих поглощение липидов, ВА недавно стали важными сигнальными молекулами, контролирующими клеточный метаболизм во всей энтерогепатической системе с помощью FXR-зависимых и FXR-независимых путей. Препятствие развитию или прогрессированию НАСГ – один из наиболее ожидаемых эффектов от агонистов FXR, помимо передачи сигналов FXR на желчные кислоты, регуляции метаболизма липидов и глюкозы. В то время как большинство доклинических и экспериментальных моделей НАСГ показали положительные результаты, клинические данные о стратегиях лечения, связанных с FXR, остаются многообещающими, но довольно скромными. Поскольку механизм действия довольно новый, особое внимание должно быть направлено на возникновение побочных эффектов, таких как дислипидемия и

зуд, а также на долгосрочные наблюдения за безопасностью. Будущие исследования должны будут показать, приводят ли комбинированные стратегии с другими метаболическими, противовоспалительными и/или антифибротическими препаратами к синергетическому терапевтическому эффекту.

Толл-подобные рецепторы, являясь рецепторами врожденного иммунитета, представляют собой ключевые факторы иммунной системы, реагирующими в ответ на факторы патогенности. Известно, что в ответ на экспрессию факторов стресса, некоторые из TLR активируются. В ходе прогрессии НАЖБП можно наблюдать увеличение как факторов патогенности в исходе дисрегуляции микробиома кишечника, так и факторов стресса, связанного с дисрегуляцией метаболизма глюкозы и липидов в организме.

Имеются данные об увеличении экспрессии TLR 4 в печени в ходе прогрессии НАЖБП. В исследовании Sharifnia с соавт. [191]. была изучена экспрессия TLR 4 в биоптатах печени 61 пациентки с НАЖБП, а также уровень липидов, и показано значительное увеличение данных параметров в группе пациенток с НАСГ по сравнению с пациентами со стеатозом. Кроме того, экспрессия всех Толл-подобных рецепторов в биоптатах печени была исследована в исследовании Kanuri с соавт. [192], в которой показано, что экспрессия TLR 1-5 у пациентов с НАЖБП значительно превышает экспрессию TLR 1-5 у контрольной группы, тогда как экспрессия TLR 6-10 значимо не различалась между группами. Существенным ограничением этой работы является то, что авторы не анализировали показатели у пациентов с различными формами НАЖБП (не делили группы на стеатоз и НАСГ).

Нами был проведен анализ экспрессии Толл-подобных рецепторов TLR 2, TLR 3 и TLR 4, экспрессия которых можно обнаружить и в здоровой ткани печени, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах печени 20 пациентов с НАЖБП (у 10 из них был диагностирован стеатоз, у 10 – НАСГ) и 4 контрольных образцах (группа «без НАЖБП»). Также был проведен

корреляционный анализ между различными клинико-диагностическими параметрами и уровнем экспрессии анализируемых молекул.

Нами было установлено, что экспрессия всех анализируемых Толл-подобных рецепторов увеличивается в ходе прогрессирования заболевания [193], что соответствует литературным данным. Экспрессия же провоспалительных цитокинов статистически не различается между группами анализа. В случае TNF наблюдается закономерное увеличение экспрессии в ходе прогрессии НАЖБП, однако ввиду значительных колебаний значений этот тренд не является статистически значимым. Вероятно, чтобы выявить и подтвердить данную тенденцию необходима большая выборка пациентов.

В результате корреляционного анализа было показано, что некоторые клинико-диагностические параметры связаны с экспрессией анализируемых молекул. Так, показатели поражения печени, такие как уровень стеатоза (по Brunt) и баллонной дистрофии, статистически значимо коррелируют с увеличением экспрессии Толл-подобных рецепторов. Вероятно, это может быть связано с увеличением факторов стресса, сопровождающего повреждение клеток печени в ходе прогрессии НАЖБП. Кроме того, существенная корреляция наблюдалась между экспрессией Толл-подобных рецепторов и уровнем мочевой кислоты в крови пациентов. Мочевая кислота - показатель нарушения метаболизма пуринов, является одним из наиболее изученных факторов стресса, активирующий рецепторы врожденного иммунитета. Тем не менее, ее вовлеченность в прогрессию НАЖБП ранее не была показана. Таким образом, оценка экспрессии Толл-подобных рецепторов может служить дополнительным параметром при оценке прогрессии НАЖБП.

Ограничения исследования

Настоящее исследование имеет ряд ограничений. Одной из основных идей его было получить результаты золотых стандартов диагностики СД2, ИР и НАЖБП – гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест и биопсия печени, на фоне отсутствия приема сахароснижающих и гиполипидемических

препаратов в настоящий момент и в анамнезе в том числе, что усложнило набор выборки. Принимая во внимание, что пациенты с впервые выявленным СД не имели осложнений и тяжелых метаболических изменений на фоне длительной гипергликемии. Возможно, потребовалось бы еще одна группа пациентов с длительно текущим СД2 для оценки влияния гипергликемии на течение НАЖБП, на профиль органокинов, на экспресиию FXR. Также ограничением исследования были трудозатратные, инвазивные методы исследования, что не позволило сделать выборку больше. Наше исследование, являясь одномоментным не дает возможности оценки концентрации органокинов на фоне лечения и/или снижения массы тела

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последнее время численность пациентов с сахарным диабетом неуклонно растет, прогнозируется, что к 2030г. число больных может достигнуть 643 млн человек. Параллельно с ростом числа пациентов с сахарным диабетом растет и численность коморбидных состояний, одним из которых является неалкогольная жировая болезнь печени. Исходя из мировых данных, распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов с сахарным диабетом значительно выше, чем в общей популяции, а также выше распространенность агрессивной формы – неалкогольного стеатогепатита с фиброзом, и выше риск развития цирроза печени и гепатоцеллюлярного рака. Доказана ассоциация НАЖБП с ожирением, сахарным диабетом 2 типа, артериальной гипертензией, атеросклерозом, хронической болезнью почек. Эти коморбидные или ассоциированные состояния оказывают двунаправленное влияние на свое естественное течение. Соответственно, своевременная диагностика и рациональное ведение данной когорты пациентов может положительно повлиять на течение коморбидных состояний и наоборот. Это необходимо помнить, поскольку основными

причинами смерти являются сердечно-сосудистые заболевания, цирроз печени и гепатоцеллюлярный рак.

В нашей работе мы продемонстрировали несомненный вклад инсулинорезистентности в развитие неалкогольной жировой болезни печени, используя современные методы диагностики. Оценка механизмов, лежащих в основе инсулинорезистентности и способствующих возникновению и прогрессированию НАЖБП необходимы для представления их как потенциально новых мишеней для инновационных препаратов.

Вместе с тем, доказано, что на выборке пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени можно использовать менее трудоемкий метод определения инсулинорезистентности – рассчет по метематической модели HOMA-IR.

Также нам удалось уточнить диагностическую значимость метода эластографии сдвиговой волны в выявлении фиброза.

Поиск органокинов, влияющих на течение неалкогольной жировой болезни печени, инсулинорезистентности и нарушений углеводного обмена в основном имел научную значимость на нашей выборке пациентов, необходимо проведение крупномасштабных исследований для выработки алгоритма неинвазивной диагностики неалкогольной жировой болезни печени.

В проведенной научной работе показано, что оценка экспрессии Толл-подобных рецепторов может служить дополнительным параметром при оценке прогрессии НАЖБП. В нашей работе впервые в Российской федерации оценена экспрессия фарнезоидного X рецептора, агонист которого сейчас активно изучается, проводятся клинические исследования II и III фазы. Полученные результаты противоречивы, поэтому требуются дальнейшее изучение молекулярных аспектов патогенеза НАЖБП для последующего определения управлением и разработкой новых методов лечения неалкогольной жировой болезни печени и ее агрессивных форм.

ВЫВОДЫ

1. Чувствительность к инсулину вносит вклад в развитие и прогрессирование морфологически подтвержденной НАЖБП: степень инсулинорезистентности выражена сильнее у пациентов с более тяжелыми формами НАЖБП. Подтверждена статистически значимая корреляция ($r= -0,58$, $p<0,00001$) показателей чувствительности к инсулину, полученных при использовании клэмп-метода (М-индекс) и на основании математической модели гомеостаза глюкозы (HOMA-IR).
2. При начальных нарушениях углеводного обмена, таких как предиабет и впервые выявленный СД2, не обнаружено влияния уровня гликемического контроля на развитие НАЖБП.
3. Показатель эластичности печени по данным эластографии сдвиговой волны коррелирует с показателем фиброза печени по Metavir по данным пункционной биопсии печени ($r=0,53$, $p<0,0001$), что предполагает высокую диагностическую значимость данного неинвазивного метода для верификации диагноза фиброза печени.
4. Экспресия фарнезоидных X рецепторов, оказывающих роль на липидный и углеводный обмен, не зависит от степени тяжести НАЖБП. Однако, их экспрессия в печени взаимосвязана с концентрацией иммунореактивного инсулина ($r = 0,44$, $p = 0,022$), что может свидетельствовать о роли фарнезоидных X рецепторов в развитии инсулинорезистентности у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом.
5. Экспрессия толл-подобных рецепторов (TLR2, TLR3 и TLR4) увеличивается в ходе прогрессирования НАЖБП ($p<0,05$). Морфологические показатели поражения печени, такие как показатель стеатоза (по Brunt), степень гистологической активности и баллонной дистрофии, статистически значимо коррелируют с увеличением экспрессии толл-подобных рецепторов ($p<0,05$), что говорит о

патогенетической роли воспалительных сигнальных путей в развитии заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам со сниженной чувствительностью к инсулину рекомендовано проведение УЗИ брюшной полости и эластографии печени для выявления стеатоза и фиброза.
2. Пациенты с подтвержденным диагнозом НАЖБП должны пройти обследование на выявление нарушений углеводного обмена.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ - аспартатаминотрансфераза

арГПП-1 - агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1

ГГТ - гамма-глутамилтранспептидаза

ИГА – индекс гистологической активности

ИЛ-6 – интерлейкин-6

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

ИРИ - иммунореактивный инсулин

ИФА - иммуноферментный анализ

КПГ - конечные продукты гликирования

КТ – компьютерная томография

ЛР – лептинорезистентность

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

М-индекс – индекс инсулинорезистентности

МАЖБП - метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени

МРТ – магнитно-резонансная томография

НАЖБП - неалкогольная жировая болезнь печени

НАСГ - неалкогольный стеатогепатит

НТГ – нарушенная толерантность к глюкозе

НГН – нарушенная гликемия натощак

ОТ – окружность талии

ОБ – окружность бедер

ПГТТ - пероральный глюкозотолерантный тест

СД – сахарный диабет

СД2 – сахарный диабет 2 типа

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ТГ - триглицериды

ТТГ – тиреотропный гормон

УЗИ – ультразвуковое исследование

УО - углеводный обмен

ФНО - фактор некроза опухоли

ЩФ – щелочная фосфатаза

ELF - Enhanced Liver Fibrosis

FABP4 – белок, связывающий жирные кислоты 4

FGF21 - фактор роста фибробластов 21

FXR - фарнезоидный Х-рецептор

HвA1c – гликированный гемоглобин

HFREP1 – гепассоцин, гепатоцитарный фибриногенподобный белок-RBP4 - ретинол-связывающий белок-4

HOMA-IR - Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance гомеостатическая модельная оценка инсулинорезистентности

Human FAS Ligand - человеческий Fas лиганд

NAFLD activity score — NAS - Шкала оценки активности НАЖБП

PIIINP - N-терминальный пропептида проколлаген III

QUICKI - Quantitave Insulin sensitivity Check Index - количественный индекс чувствительности к инсулину

TLR1 – толл-подобный рецептор-1

TLR2 - толл-подобный рецептор-2

TLR3 - толл-подобный рецептор-3

TLR4 - толл-подобный рецептор-4

Type I cytoskeletal 18 fragment - цитокератин-18, CK-18

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] International Diabetes Federation. *IDF Diabetes atlas.* 10TH Edition, 2021. Available at: http://www.diabetesatlas.org. Accessed: 10.12.2021. 2021.

[2] Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р., “Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION).” *Сахарный диабет*, Т. 19, № 2, с. 104–112, Апр. 2016

[3] Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. “Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом Под редакцией Дедова И.И., Шестаковой М.В., Майорова А.Ю. 10 выпуск” *Сахарный диабет*, Т. 24, № 1S, с. 1–148, Авг. 2022.

[4] Jichitu A. *et al.*, “Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Comorbidities: Pathophysiological Links, Diagnosis, and Therapeutic Management,” *Diagnostics*, vol. 11, no. 4, p. 689, Apr. 2021

[5] Povsic M., Wong O. Y., Perry R., and Bottomley J., “A Structured Literature Review of the Epidemiology and Disease Burden of Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH),” *Adv Ther*, vol. 36, no. 7, pp. 1574–1594, Jul. 2019

[6] Younossi Z. M. *et al.*, “The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis,” *J Hepatol*, vol. 71, no. 4, pp. 793–801, Oct. 2019

[7] Leoni S., Tovoli F., Napoli L., Serio I., Ferri S., and Bolondi L., “Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis,” *World J Gastroenterol*, vol. 24, no. 30, pp. 3361–3373, Aug. 2018

[8] Bellentani S., “The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease,” *Liver International*, vol. 37, pp. 81–84, Jan. 2017

[9] Friedman S. L., Neuschwander-Tetri B. A., Rinella M., and Sanyal A. J., “Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies,” *Nat Med*, vol. 24, no. 7, pp. 908–922, Jul. 2018

[10] Younossi Z. M., Koenig A. B., Abdelatif D., Fazel Y., Henry L., and Wymer M., “Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes,” *Hepatology*, vol. 64, no. 1, pp. 73–84, Jul. 2016

[11] Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Тихонов И.Н., Широкова Е.Н., Буеверов А.О., Драпкина О.М., Шульпекова Ю.О., Цуканов В.В., Маммаев С.Н., Маев И.В., Пальгова Л.К. “Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации,” Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. *Т.26, №2, с.24-42, 2016*

[12] Povsic M., Wong O. Y., Perry R., and Bottomley J., “A Structured Literature Review of the Epidemiology and Disease Burden of Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH),” *Adv Ther*, vol. 36, no. 7, pp. 1574–1594, Jul. 2019

[13] Williams C. D. *et al.*, “Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis Among a Largely Middle-Aged Population Utilizing Ultrasound and Liver Biopsy: A Prospective Study,” *Gastroenterology*, vol. 140, no. 1, pp. 124–131, Jan. 2011

[14] Estes C., Razavi H., Loomba R., Younossi Z., and Sanyal A. J., “Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease,” *Hepatology*, vol. 67, no. 1, pp. 123–133, Jan. 2018

[15] Younossi Z. M., Tampi R., Priyadarshini M., Nader F., Younossi I. M., and Racila A., “Burden of Illness and Economic Model for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States,” *Hepatology*, vol. 69, no. 2, pp. 564–572, Feb. 2019

[16] Дедов И.И., Мельниченко Г.А. *Морбидное ожирение*. 608 с., 2014.

[17] Portillo-Sanchez P. *et al.*, “WITHDRAWN: High Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Normal Plasma Aminotransferase Levels (article published in final form as 10.1210/jc.2015-1966),” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 105, no. 8, pp. e3063–e3063, Aug. 2020

[18] Doycheva I. *et al.*, “Non-invasive screening of diabetics in primary care for NAFLD and advanced fibrosis by MRI and MRE,” *Aliment Pharmacol Ther*, vol. 43, no. 1, pp. 83–95, Jan. 2016

[19] Eslam M. *et al.*, “MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease,” *Gastroenterology*, vol. 158, no. 7, pp. 1999-2014.e1, May 2020, doi: 10.1053/j.gastro.2019.11.312.

[20] Винницкая Е.В., Сандлер Ю.Г., Бордин Д.С. “Новая парадигма неалкогольной жировой болезни печени: фенотипическое многообразие метаболически ассоциированной жировой болезни печени,” *Эффективная фармакотерапия.* Т. 16, № 24, с. 54–63, Авг. 2020.

[21] Lonardo A., Ballestri S., Marchesini G., Angulo P., and Loria P., “Nonalcoholic fatty liver disease: A precursor of the metabolic syndrome,” *Digestive and Liver Disease*, vol. 47, no. 3, pp. 181–190, Mar. 2015

[22] Лазебник Л. Б. *и др.*, “Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации для терапевтов, третья версия” *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, Т. 1, № 1, с. 4–52, Март 2021

[23] Комшилова К.А., Трошина Е.А. “Ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени: метаболические риски и их коррекция.” *Ожирение и метаболизм.*, Т. 12, №. 2, с. 35–39, Июнь 2015

[24] Драпкина О.М., Фадеева М., “Атеросклероз – болезнь печени?”, *Справочник поликлинического врача,* Т. 10, с. 4–9, 2013.

[25] Sun K., Tordjman J., Clément K., and Scherer P. E., “Fibrosis and Adipose Tissue Dysfunction,” *Cell Metab*, vol. 18, no. 4, pp. 470–477, Oct. 2013

[26] Petersen M. C., Samuel V. T., Petersen K. F., and Shulman G. I., “Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance,” in *The Liver*, Wiley, 2020, pp. 455–471.

[27] Sanyal A. J. *et al.*, “Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities,” *Gastroenterology*, vol. 120, no. 5, pp. 1183–1192, Apr. 2001

[28] Gholam P. M., Flancbaum L., Machan J. T., Charney D. A., and Kotler D. P., “Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Severely Obese Subjects,” *Am J Gastroenterol*, vol. 102, no. 2, pp. 399–408, Feb. 2007

[29] Bae J. C. *et al.*, “Impact of Nonalcoholic Fatty Liver Disease on Insulin Resistance in Relation to HbA1c Levels in Nondiabetic Subjects,” *American Journal of Gastroenterology*, vol. 105, no. 11, pp. 2389–2395, Nov. 2010

[30] Marchesini G., “Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome,” *Hepatology*, vol. 37, no. 4, pp. 917–923, Apr. 2003

[31] Lomonaco R. *et al.*, “Role of ethnicity in overweight and obese patients with nonalcoholic steatohepatitis,” *Hepatology*, vol. 54, no. 3, pp. 837–845, Sep. 2011

[32] “EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease,” *J Hepatol*, vol. 64, no. 6, pp. 1388–1402, Jun. 2016

[33] Liebe R. *et al.*, “Diagnosis and management of secondary causes of steatohepatitis,” *J Hepatol*, vol. 74, no. 6, pp. 1455–1471, Jun. 2021

[34] Маевская М.В., Котовская Ю.В., Ивашкин В.Т., Ткачева О.Н., Трошина Е.А., Шестакова М.В., Бредер В.В., Гейвандова Н.И., Дощицин В.Л., Дудинская Е.Н., Ершова Е.В., Кодзоева Х.Б., Комшилова К.А., Корочанская Н.В., Майоров А.Ю., Мишина Е.Е., Надинская М.Ю., Никитин И.Г., Погосова Н.В., Тарзиманова А.И., Шамхалова М.Ш. “Национальный Консенсус для врачей по ведению взрослых пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и ее основными коморбидными состояниями. ” *Терапевтический архив*, Т. 94, № 2, с. 216–253, Фев. 2022

[35] Bedossa P., “Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease,” *Hepatology*, vol. 60, no. 2, pp. 565–575, Aug. 2014

[36] Драпкина О.М., Шепель Р.Н., Яковенко Э.П., Зятенкова Е.В. “Неинвазивные методы выявления прогрессирующего фиброза у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени,” *Профилактическая медицина*, Т. 22, № 2, с. 82, 2019

[37] Широкова Е.Н., Павлов Ч.С., Карасёва А.Д., и др. “Эластография в диагностике неалкогольной жировой болезни печени.” *Вестник Российской академии медицинских наук.* Т. 74, №. 1, с. 5–13, Апр. 2019

[38] Изранов В.А., Казанцева Н.В., Мартинович М.В., Бут-Гусаим В.И., Степанян И.А. “Методы эластографии печени и проблемы русскоязычной терминологии,” *Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки.* Т. 1, с. 63–78, 2019.

[39] Shiina T., “JSUM ultrasound elastography practice guidelines: basics and terminology,” *Journal of Medical Ultrasonics*, vol. 40, no. 4, pp. 309–323, Oct. 2013

[40] Ивашкин В.Т. и *др.* “Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российской ассоциации эндокринологов, Российской ассоциации геронтологов и гериатров и Национального общества про- филактической кардиологии по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени” *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*, Т. 32, № 4, с. 104–140, Сен. 2022

[41] Ekstedt M. *et al.*, “Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up,” *Hepatology*, vol. 61, no. 5, pp. 1547–1554, May 2015

[42] Kleiner D. E. *et al.*, “Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease,” *Hepatology*, vol. 41, no. 6, pp. 1313–1321, Jun. 2005

[43] Буеверов А.О., Рощина К.М., Богомолов П.О. “Неалкогольная жировая болезнь печени: новый взгляд на аспекты коморбидности,” *Эффективная фармакотерапия.*, Т. 18, № 6, с. 32–38, 2022.

[44] Kim T. H., Hong D. G., and Yang Y. M., “Hepatokines and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Linking Liver Pathophysiology to Metabolism,” *Biomedicines*, vol. 9, no. 12. MDPI, Dec. 01, 2021

[45] Stefan N. and Häring H. U., “The role of hepatokines in metabolism,” *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 9, no. 3. pp. 144–152, Mar. 2013

[46] Jensen-Cody S. O. and Potthoff M. J., “Hepatokines and metabolism: Deciphering communication from the liver,” *Molecular Metabolism*, vol. 44. Elsevier GmbH, Feb. 01, 2021

[47] Meex R. C. R. and Watt M. J., “Hepatokines: Linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance,” *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 13, no. 9. Nature Publishing Group, pp. 509–520, Sep. 01, 2017.

[48] Мишина Е.Е., Майоров А.Ю., Богомолов П.О., Мациевич М.В., Кокина К.Ю., Боголюбова А.В. “Неалкогольная жировая болезнь печени: причина или следствие инсулинорезистентности? ” *Сахарный диабет*., Т. 20, № 5, с. 335–343, Дек. 2017

[49] Watt M. J., Miotto P. M., W. de Nardo, and Montgomery M. K., “The Liver as an Endocrine Organ - Linking NAFLD and Insulin Resistance,” *Endocrine Reviews*, vol. 40, no. 5. Oxford University Press, pp. 1367–1393, May 10, 2019

[50] Dijk W. and Kersten S., “Regulation of lipid metabolism by angiopoietin-like proteins,” *Current Opinion in Lipidology*, vol. 27, no. 3. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 249–256, Jun. 01, 2016

[51] Hato T., Tabata M., and Oike Y., “The Role of Angiopoietin-Like Proteins in Angiogenesis and Metabolism,” *Trends in Cardiovascular Medicine*, vol. 18, no. 1. pp. 6–14, Jan. 2008

[52] Dijk W., Beigneux A. P., Larsson M., Bensadoun A., Young S. G., and Kersten S., “Angiopoietin-like 4 (ANGPTL4) promotes intracellular degradation of lipoprotein lipase in adipocytes,” 2016. [Online]. Available: www.jlr.org

[53] Cinkajzlová A. *et al.*, “Angiopoietin-like protein 3 and 4 in obesity, type 2 diabetes mellitus, and malnutrition: The effect of weight reduction and realimentation,” *Nutr Diabetes*, vol. 8, no. 1, Dec. 2018

[54] Tjeerdema N. *et al.*, “Inflammation increases plasma angiopoietin-like protein 4 in patients with the metabolic syndrome and type 2 diabetes,” *Care*, vol. 2, p. 34, 2014

[55] Barja-Fernandez S. *et al.*, “Plasma ANGPTL-4 is Associated with Obesity and Glucose Tolerance: Cross-Sectional and Longitudinal Findings,” *Mol Nutr Food Res*, vol. 62, no. 10, May 2018

[56] Robciuc M. R., Tahvanainen E., Jauhiainen M., and Ehnholm C., “Quantitation of serum angiopoietin-like proteins 3 and 4 in a Finnish population sample,” *J Lipid Res*, vol. 51, no. 4, pp. 824–831, Apr. 2010

[57] Olivier E., “Fetuin-B, a second member of the fetuin family in mammals,” *Biochem J. 2000 Sep 1;350 Pt 2(Pt 2):589-97.*

[58] Meex R. C. R. and Watt M. J., “Hepatokines: linking nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance,” *Nat Rev Endocrinol*, vol. 13, no. 9, pp. 509–520, Sep. 2017

[59] Jialal I. and Pahwa R., “Fetuin-A is also an adipokine,” *Lipids Health Dis*, vol. 18, no. 1, p. 73, Dec. 2019

[60] Haukeland J. W. *et al.*, “Fetuin A in nonalcoholic fatty liver disease: in vivo and in vitro studies,” *Eur J Endocrinol*, vol. 166, no. 3, pp. 503–510, Mar. 2012

[61] Stefan N. and Häring H.-U., “The role of hepatokines in metabolism,” *Nat Rev Endocrinol*, vol. 9, no. 3, pp. 144–152, Mar. 2013

[62] Mathews S. T. *et al.*, “Improved Insulin Sensitivity and Resistance to Weight Gain in Mice Null for the *Ahsg* Gene,” *Diabetes*, vol. 51, no. 8, pp. 2450–2458, Aug. 2002

[63] Reinehr T. and Roth C. L., “Fetuin-A and Its Relation to Metabolic Syndrome and Fatty Liver Disease in Obese Children Before and After Weight Loss,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 93, no. 11, pp. 4479–4485, Nov. 2008

[64] Mukhopadhyay S. and Bhattacharya S., “Plasma fetuin-A triggers inflammatory changes in macrophages and adipocytes by acting as an adaptor protein between NEFA and TLR-4,” *Diabetologia*, vol. 59, no. 4, pp. 859–860, Apr. 2016

[65] Pal D. *et al.*, “Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance,” *Nat Med*, vol. 18, no. 8, pp. 1279–1285, Aug. 2012

[66] Dasgupta S. *et al.*, “NF-κB mediates lipid-induced fetuin-A expression in hepatocytes that impairs adipocyte function effecting insulin resistance,” *Biochemical Journal*, vol. 429, no. 3, pp. 451–462, Aug. 2010

[67] Denecke B *et al.*, “Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A,” *Biochemical Journal*, vol. 376, no. 1, pp. 135–145, Nov. 2003

[68] J. Zhu *et al.*, “Serum fetuin B level increased in subjects of nonalcoholic fatty liver disease: a case-control study,” *Endocrine*, vol. 56, no. 1, pp. 208–211, Apr. 2017

[69] Ebert T. *et al.*, “Association of fetuin B with markers of liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease,” *Endocrine*, vol. 58, no. 2, pp. 246–252, Nov. 2017

[70] Staiger H., Keuper M., Berti L., Hrabě de Angelis M., and Häring H.-U., “Fibroblast Growth Factor 21—Metabolic Role in Mice and Men,” *Endocr Rev*, vol. 38, no. 5, pp. 468–488, Oct. 2017

[71] Mutanen A., Heikkilä P., Lohi J., Raivio T., Jalanko H., and Pakarinen M. P., “Serum FGF21 increases with hepatic fat accumulation in pediatric onset intestinal failure,” *J Hepatol*, vol. 60, no. 1, pp. 183–190, Jan. 2014

[72] Zhang X. *et al.*, “Serum FGF21 Levels Are Increased in Obesity and Are Independently Associated With the Metabolic Syndrome in Humans,” *Diabetes*, vol. 57, no. 5, pp. 1246–1253, May 2008

[73] Chavez A. O., Molina-Carrion M., Abdul-Ghani M. A., Folli F., DeFronzo R. A. and Tripathy D., “Circulating Fibroblast Growth Factor-21 Is Elevated in Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes and Correlates With Muscle and Hepatic Insulin Resistance,” *Diabetes Care*, vol. 32, no. 8, pp. 1542–1546, Aug. 2009

[74] Fon Tacer K. *et al.*, “Research Resource: Comprehensive Expression Atlas of the Fibroblast Growth Factor System in Adult Mouse,” *Molecular Endocrinology*, vol. 24, no. 10, pp. 2050–2064, Oct. 2010

[75] Xu J. *et al.*, “Fibroblast Growth Factor 21 Reverses Hepatic Steatosis, Increases Energy Expenditure, and Improves Insulin Sensitivity in Diet-Induced Obese Mice,” *Diabetes*, vol. 58, no. 1, pp. 250–259, Jan. 2009

[76] Berglund E. D. *et al.*, “Fibroblast Growth Factor 21 Controls Glycemia via Regulation of Hepatic Glucose Flux and Insulin Sensitivity,” *Endocrinology*, vol. 150, no. 9, pp. 4084–4093, Sep. 2009

[77] Kaufman A., Abuqayyas L., Denney W. S., Tillman E. J., and Rolph T., “AKR-001, an Fc-FGF21 Analog, Showed Sustained Pharmacodynamic Effects on Insulin Sensitivity and Lipid Metabolism in Type 2 Diabetes Patients,” *Cell Rep Med*, vol. 1, no. 4, p. 100057, Jul. 2020

[78] Kliewer S. A. and Mangelsdorf D. J., “A Dozen Years of Discovery: Insights into the Physiology and Pharmacology of FGF21,” *Cell Metab*, vol. 29, no. 2, pp. 246–253, Feb. 2019

[79] Geng L., K. S. L. Lam, and Xu A., “The therapeutic potential of FGF21 in metabolic diseases: from bench to clinic,” *Nat Rev Endocrinol*, vol. 16, no. 11, pp. 654–667, Nov. 2020

[80] Gastaldelli A., Stefan N., and Häring H.-U., “Liver-targeting drugs and their effect on blood glucose and hepatic lipids,” *Diabetologia*, vol. 64, no. 7, pp. 1461–1479, Jul. 2021

[81] Kim T. H., Hong D.-G., and Yang Y. M., “Hepatokines and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Linking Liver Pathophysiology to Metabolism,” *Biomedicines*, vol. 9, no. 12, p. 1903, Dec. 2021

[82] Steinhoff J. S., Lass A., and Schupp M., “Biological Functions of RBP4 and Its Relevance for Human Diseases,” *Front Physiol*, vol. 12, Mar. 2021, doi: 10.3389/fphys.2021.659977.

[83] Yang Q. *et al.*, “Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes,” *Nature*, vol. 436, no. 7049, pp. 356–362, Jul. 2005

[84] Kilicarslan M. *et al.*, “RBP4 increases lipolysis in human adipocytes and is associated with increased lipolysis and hepatic insulin resistance in obese women,” *The FASEB Journal*, vol. 34, no. 5, pp. 6099–6110, May 2020

[85] Moraes-Vieira P. M., M. M. Yore, P. M. Dwyer, I. Syed, P. Aryal, and B. B. Kahn, “RBP4 Activates Antigen-Presenting Cells, Leading to Adipose Tissue Inflammation and Systemic Insulin Resistance,” *Cell Metab*, vol. 19, no. 3, pp. 512–526, Mar. 2014

[86] Haider D. G. *et al.*, “Serum Retinol-Binding Protein 4 Is Reduced after Weight Loss in Morbidly Obese Subjects,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 92, no. 3, pp. 1168–1171, Mar. 2007

[87] Graham T. E. *et al.*, “Retinol-Binding Protein 4 and Insulin Resistance in Lean, Obese, and Diabetic Subjects,” *New England Journal of Medicine*, vol. 354, no. 24, pp. 2552–2563, Jun. 2006

[88] Perseghin G. *et al.*, “Serum Retinol-Binding Protein-4, Leptin, and Adiponectin Concentrations Are Related to Ectopic Fat Accumulation,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 92, no. 12, pp. 4883–4888, Dec. 2007

[89] Wu H. *et al.*, “Serum retinol binding protein 4 and nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus,” *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 79, no. 2, pp. 185–190, Feb. 2008

[90] Cai H. *et al.*, “Serum retinol binding protein 4 and galectin-3 binding protein as novel markers for postmenopausal nonalcoholic fatty liver disease,” *Clin Biochem*, vol. 56, pp. 95–101, Jun. 2018

[91] Feldstein A. E., Wieckowska A., Lopez A. R., Liu Y.-C., Zein N. N., and McCullough A. J., “Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: A multicenter validation study,” *Hepatology*, vol. 50, no. 4, pp. 1072–1078, Oct. 2009

[92] Eguchi A., Wree A., and Feldstein A. E., “Biomarkers of liver cell death,” *J Hepatol*, vol. 60, no. 5, pp. 1063–1074, May 2014

[93] Feldstein A. E. *et al.*, “Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis,” *Gastroenterology*, vol. 125, no. 2, pp. 437–443, Aug. 2003

[94] Zou C. *et al.*, “Lack of Fas antagonism by Met in human fatty liver disease.,” *Nat Med*, vol. 13, no. 9, pp. 1078–85, Sep. 2007

[95] Alkhouri N., Carter-Kent C., and Feldstein A. E., “Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications,” *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, vol. 5, no. 2, pp. 201–212, Apr. 2011

[96] H.-T. Yu *et al.*, “Specific Expression and Regulation of Hepassocin in the Liver and Down-regulation of the Correlation of HNF1α with Decreased Levels of Hepassocin in Human Hepatocellular Carcinoma,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 284, no. 20, pp. 13335–13347, May 2009

[97] C. Y. Li *et al.*, “Recombinant human hepassocin stimulates proliferation of hepatocytes in vivo and improves survival in rats with fulminant hepatic failure,” *Gut*, vol. 59, no. 6, pp. 817–826, Jun. 2010

[98] H.-T. Wu *et al.*, “A novel hepatokine, HFREP1, plays a crucial role in the development of insulin resistance and type 2 diabetes,” *Diabetologia*, vol. 59, no. 8, pp. 1732–1742, Aug. 2016

[99] H.-T. Wu *et al.*, “The role of Hepassocin in the development of non-alcoholic fatty liver disease,” *J Hepatol*, vol. 59, no. 5, pp. 1065–1072, Nov. 2013

[100] Kruse R., Vienberg S. G., Vind B. F., Andersen B., and Højlund K., “Effects of insulin and exercise training on FGF21, its receptors and target genes in obesity and type 2 diabetes,” *Diabetologia*, vol. 60, no. 10, pp. 2042–2051, Oct. 2017

[101] Huang R. *et al.*, “Discovery of a role of the novel hepatokine, hepassocin, in obesity,” *BioFactors*, vol. 46, no. 1, pp. 100–105, Jan. 2020

[102] H. Wu *et al.*, “Targeting fibrinogen-like protein 1 is a novel therapeutic strategy to combat obesity,” *The FASEB Journal*, vol. 34, no. 2, pp. 2958–2967, Feb. 2020

[103] Barchetta I. *et al.*, “Procollagen-III peptide identifies adipose tissue-associated inflammation in type 2 diabetes with or without nonalcoholic liver disease,” *Diabetes Metab Res Rev*, vol. 34, no. 5, p. e2998, Jul. 2018

[104] Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Туркина С.В., Райхельсон К.Л., Оковитый С.В., Драпкина О.М., Маев И.В., Мартынов А.И., Ройтберг Г.Е., Хлынова О.В., Абдулганиева Д.И., Алексеенко С.А., Ардатская М.Д., Бакулин И.Г., Бакулина Н.В., Буеверов А.О., Виницкая Е.В., Волынец Г.В., Еремина Е.Ю., Гриневич В.Б., Долгушина А.И., Казюлин А.Н., Кашкина Е.И., Козлова И.В., Конев Ю.В., Корочанская Н.В., Кравчук Ю.А., Ли Е.Д., Лоранская И.Д., Махов В.М., Мехтиев С.Н., Новикова В.П., Остроумова О.Д., Павлов Ч.С., Радченко В.Г., Самсонов А.А., Сарсенбаева А.С., Сайфутдинов Р.Г., Селиверстов П.В.,

Ситкин С.И., Стефанюк О.В., Тарасова Л.В., Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., Хавкин А.И., Цыганова Ю.В., Шархун О.О. “Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации для терапевтов, третья версия,” *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. Т. 1, № 1, с. 4–52, Март 2021

[105] Vali Y. *et al.*, “Enhanced liver fibrosis test for the non-invasive diagnosis of fibrosis in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis,” *J Hepatol*, vol. 73, no. 2, pp. 252–262, Aug. 2020

[106] Moreno-Vedia J., Girona J., Ibarretxe D., Masana L., and Rodríguez-Calvo R., “Unveiling the Role of the Fatty Acid Binding Protein 4 in the Metabolic-Associated Fatty Liver Disease,” *Biomedicines*, vol. 10, no. 1, p. 197, Jan. 2022

[107] Queipo-Ortuño M. I. *et al.*, “FABP4 Dynamics in Obesity: Discrepancies in Adipose Tissue and Liver Expression Regarding Circulating Plasma Levels,” *PLoS One*, vol. 7, no. 11, p. e48605, Nov. 2012

[108] Kralisch S. and Fasshauer M., “Adipocyte fatty acid binding protein: a novel adipokine involved in the pathogenesis of metabolic and vascular disease?,” *Diabetologia*, vol. 56, no. 1, pp. 10–21, Jan. 2013

[109] Rodríguez-Calvo R., Girona J., Alegret J. M., Bosquet A., Ibarretxe D., and Masana L., “Role of the fatty acid-binding protein 4 in heart failure and cardiovascular disease,” *Journal of Endocrinology*, vol. 233, no. 3, pp. R173–R184, Jun. 2017

[110] Furuhashi M. and Hotamisligil G. S., “Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets,” *Nat Rev Drug Discov*, vol. 7, no. 6, pp. 489–503, Jun. 2008

[111] Sulsky R. *et al.*, “Potent and selective biphenyl azole inhibitors of adipocyte fatty acid binding protein (aFABP),” *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 17, no. 12, pp. 3511–3515, Jun. 2007

[112] Ringom R., Axen E., Uppenberg J., Lundbäck T., Rondahl L., and Barf T., “Substituted benzylamino-6-(trifluoromethyl)pyrimidin-4(1H)-ones: a novel class of selective human A-FABP inhibitors,” *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 14, no. 17, pp. 4449–4452, Sep. 2004,

[113] Lehmann F. *et al.*, “Discovery of inhibitors of human adipocyte fatty acid-binding protein, a potential type 2 diabetes target,” *Bioorg Med Chem Lett*, vol. 14, no. 17, pp. 4445–4448, Sep. 2004

[114] Furuhashi M.and Hotamisligil G. S., “Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets,” *Nat Rev Drug Discov*, vol. 7, no. 6, pp. 489–503, Jun. 2008

[115] Wang Y., Law W.-K., Hu J.-S., Lin H.-Q., Ip T.-M., and Wan D. C.-C., “Discovery of FDA-Approved Drugs as Inhibitors of Fatty Acid Binding Protein 4 Using Molecular Docking Screening,” *J Chem Inf Model*, vol. 54, no. 11, pp. 3046–3050, Nov. 2014

[116] X. Miao, Y. Wang, W. Wang, X. Lv, M. Wang, and H. Yin, “The mAb against adipocyte fatty acid-binding protein 2E4 attenuates the inflammation in the mouse model of high-fat diet-induced obesity via toll-like receptor 4 pathway,” *Mol Cell Endocrinol*, vol. 403, pp. 1–9, Mar. 2015

[117] Cao H. *et al.*, “Adipocyte Lipid Chaperone aP2 Is a Secreted Adipokine Regulating Hepatic Glucose Production,” *Cell Metab*, vol. 17, no. 5, pp. 768–778, May 2013

[118] Morioka T., Mori K., Motoyama K., and Emoto M., “Ectopic Fat Accumulation and Glucose Homeostasis: Role of Leptin in Glucose and Lipid Metabolism and Mass Maintenance in Skeletal Muscle,” in *Musculoskeletal Disease Associated with Diabetes Mellitus*, Tokyo: Springer Japan, 2016, pp. 201–213.

[119] Бородкина Д.А., Груздева О.В., Акбашева О.Е., Белик Е.В., Паличева Е.И., Барбараш О.Л. “Лептинорезистентность, нерешенные вопросы диагностики,” *Проблемы эндокринологии.* Т. 64, № 1, с. 62–66, Апр. 2018

[120] Moonishaa T., Nanda S., Shamraj M., Sivaa R., Sivakumar P., and Ravichandran K., “Evaluation of leptin as a marker of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus,” *Int J Appl Basic Med Res*, vol. 7, no. 3, p. 176, 2017

[121] Diep Nguyen T., “Adiponectin: Role in physiology and pathophysiology,” *Int J Prev Med*, vol. 11, no. 1, p. 136, 2020

[122] Комшилова К.А., “Абдоминальное ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени: клинико-лабораторные и морфологические сопоставления,” Москва, 2015.

[123] Heydari M., Cornide-Petronio M. E., Jiménez-Castro M. B., and Peralta C. “Data on Adiponectin from 2010 to 2020: Therapeutic Target and Prognostic Factor for Liver Diseases?” *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 15, p. 5242, Jul. 2020

[124] Acquarone E., Monacelli F., Borghi R., Nencioni A., and Odetti P., “Resistin: A reappraisal,” *Mech Ageing Dev*, vol. 178, pp. 46–63, Mar. 2019

[125] Bekaert M., Verhelst X., Geerts A., Lapauw B., and Calders P., “Association of recently described adipokines with liver histology in biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review,” *Obesity Reviews*, vol. 17, no. 1, pp. 68–80, Jan. 2016

[126] Senateş E. *et al.*, “Circulating resistin is elevated in patients with non-alcoholic fatty liver disease and is associated with steatosis, portal inflammation, insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis scores.,” *Minerva Med*, vol. 103, no. 5, pp. 369–76, Oct. 2012.

[127] Cengiz C., Ardicoglu Y., Bulut S., and Boyacioglu S., “Serum retinol-binding protein 4 in patients with nonalcoholic fatty liver disease: does it have a significant impact on pathogenesis?,” *Eur J Gastroenterol Hepatol*, vol. 22, no. 7, pp. 813–819, Jul. 2010

[128] Aller R. *et al.*, “Influence of Insulin Resistance and Adipokines in the Grade of Steatosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease,” *Dig Dis Sci*, vol. 53, no. 4, pp. 1088–1092, Apr. 2008

[129] Argentou M. *et al.*, “Adipokine Serum Levels Are Related to Liver Histology in Severely Obese Patients Undergoing Bariatric Surgery,” *Obes Surg*, vol. 19, no. 9, pp. 1313–1323, Sep. 2009

[130] Koehler E., Swain J., Sanderson S., Krishnan A., Watt K., and Charlton M., “Growth hormone, dehydroepiandrosterone and adiponectin levels in non-alcoholic steatohepatitis: an endocrine signature for advanced fibrosis in obese patients,” *Liver International*, vol. 32, no. 2, pp. 279–286, Feb. 2012

[131] Musso G. *et al.*, “Adipokines in NASH: Postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease,” *Hepatology*, vol. 42, no. 5, pp. 1175–1183, Nov. 2005

[132] Chang Y.-H., Chang D.-M., Lin K.-C., Shin S.-J., and Lee Y.-J., “Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review,” *Diabetes Metab Res Rev*, vol. 27, no. 6, pp. 515–527, Sep. 2011

[133] Revollo J. R. *et al.*, “Nampt/PBEF/Visfatin Regulates Insulin Secretion in β Cells as a Systemic NAD Biosynthetic Enzyme,” *Cell Metab*, vol. 6, no. 5, pp. 363–375, Nov. 2007

[134] Carbone F. *et al.*, “Regulation and Function of Extracellular Nicotinamide Phosphoribosyltransferase/Visfatin,” in *Comprehensive Physiology*, Wiley, 2017, pp. 603–621.

[135] Genc H. *et al.*, “Association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease,” *Ann Hepatol*, vol. 12, no. 4, pp. 380–387, Jul. 2013

[136] Aller R. *et al.*, “Influence of Visfatin on Histopathological Changes of Non-alcoholic Fatty Liver Disease,” *Dig Dis Sci*, vol. 54, no. 8, pp. 1772–1777, Aug. 2009

[137] Kukla M. *et al.*, “Liver visfatin expression in morbidly obese patients with nonalcoholic fatty liver disease undergoing bariatric surgery.,” *Pol J Pathol*, vol. 61, no. 3, pp. 147–53, 2010.

[138] Gaddipati R. *et al.*, “Visceral adipose tissue visfatin in nonalcoholic fatty liver disease,” *Ann Hepatol*, vol. 9, no. 3, pp. 266–270, Jul. 2010

[139] Polyzos S. A., Kountouras J., and Mantzoros C. S., “Leptin in nonalcoholic fatty liver disease: A narrative review,” *Metabolism*, vol. 64, no. 1, pp. 60–78, Jan. 2015

[140] Polyzos S. A., Kountouras J., and Mantzoros C. S., “Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease,” *Metabolism*, vol. 65, no. 8, pp. 1062–1079, Aug. 2016

[141] Martínez-Uña M., López-Mancheño Y., Diéguez C., Fernández-Rojo M. A., and Novelle M. G., "Unraveling the Role of Leptin in Liver Function and Its Relationship with Liver Diseases," *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 24, p. 9368, Dec. 2020

[142] Salman A. A. *et al.*, "Effect of weight loss induced by laparoscopic sleeve gastrectomy on liver histology and serum adipokine levels," *J Gastroenterol Hepatol*, vol. 35, no. 10, pp. 1769–1773, Oct. 2020

[143] Zhang S., Wang J., Liu Q., and Harnish D. C., "Farnesoid X receptor agonist WAY-362450 attenuates liver inflammation and fibrosis in murine model of non-alcoholic steatohepatitis," *J Hepatol*, vol. 51, no. 2, pp. 380–388, Aug. 2009

[144] Kong B., Luyendyk J. P., Tawfik O., and Guo G. L., "Farnesoid X Receptor Deficiency Induces Nonalcoholic Steatohepatitis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Knockout Mice Fed a High-Fat Diet," *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 328, no. 1, pp. 116–122, Jan. 2009

[145] Neuschwander-Tetri B. A. *et al.*, "Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial," *The Lancet*, vol. 385, no. 9972, pp. 956–965, Mar. 2015

[146] Parks D. J. *et al.*, "Bile Acids: Natural Ligands for an Orphan Nuclear Receptor," *Science (1979)*, vol. 284, no. 5418, pp. 1365–1368, May 1999

[147] ARRESE M., "New horizons in the regulation of bile acid and lipid homeostasis: critical role of the nuclear receptor FXR as an intracellular bile acid sensor," *Gut*, vol. 49, no. 4, pp. 465–466, Oct. 2001

[148] M. Arrese, D. Cabrera, and F. Barrera, "Obeticholic acid: expanding the therapeutic landscape of NASH," *Ann Hepatol*, vol. 14, no. 3, pp. 430–432, May 2015

[149] Younossi Z. M. *et al.*, "Obeticholic Acid Impact on Quality of Life in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis: REGENERATE 18-Month Interim Analysis," *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 20, no. 9, pp. 2050-2058.e12, Sep. 2022

[150] Mudaliar S. *et al.*, “Efficacy and Safety of the Farnesoid X Receptor Agonist Obeticholic Acid in Patients With Type 2 Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease,” *Gastroenterology*, vol. 145, no. 3, pp. 574-582.e1, Sep. 2013

[151] Ratziu V. *et al.*, “Aramchol in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial,” *Nat Med*, vol. 27, no. 10, pp. 1825–1835, Oct. 2021

[152] Harrison S. A. *et al.*, “Resmetirom (MGL-3196) for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial,” *The Lancet*, vol. 394, no. 10213, pp. 2012–2024, Nov. 2019

[153] Friedman S. L. *et al.*, “A randomized, placebo-controlled trial of cenicriviroc for treatment of nonalcoholic steatohepatitis with fibrosis,” *Hepatology*, vol. 67, no. 5, pp. 1754–1767, May 2018

[154] Matthews D. R., Hosker J. P., A. S. Rudenski, B. A. Naylor, D. F. Treacher, and R. C. Turner, “Homeostasis model assessment: insulin resistance and ?-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man,” *Diabetologia*, vol. 28, no. 7, pp. 412–419, Jul. 1985, doi: 10.1007/BF00280883.

[155] Майоров А.Ю., Урбанова К.А., and Галстян Г.Р., “Методы количественной оценки инсулинорезистентности,” *Ожирение и метаболизм.*, vol. 6, no. 2, pp. 19–23, Jun. 2009, doi: 10.14341/2071-8713-5313.

[156] Майоров А.Ю., “Состояние инсулинорезистентности в эволюции сахарного диабета 2 типа,” Диссертация. докт. мед. наук. Москва; 2009. 217с.

[157] Verney J., Schwartz C., Amiche S., Pereira B., and Thivel D., “Comparisons of a Multi-Frequency Bioelectrical Impedance Analysis to the Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Scan in Healthy Young Adults Depending on their Physical Activity Level,” *J Hum Kinet*, vol. 47, no. 1, pp. 73–80, Sep. 2015

[158] Винницкая Е.В. *и др.*, “Методические рекомендации. Применение современных методов оценки фиброза и стеатоза в диагностике хронических заболеваний печени в условиях стационарных и поликлинических учреждений.” 2019.

[159] Castéra L. *et al.*, “Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C,” *Gastroenterology*, vol. 128, no. 2, pp. 343–350, Feb. 2005

[160] Кособян Е.П., Смирнова О.М. “Современные концепции патогенеза неалкогольной жировой болезни печени.,” *Сахарный диабет.*, Т. 13, № 1, с. 55–64, Март 2010

[161] Vilar-Gomez E. *et al.*, “Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis,” *Gastroenterology*, vol. 149, no. 2, pp. 367-378.e5, Aug. 2015

[162] McPherson S., Hardy T., Henderson E., Burt A. D., Day C. P., and Anstee Q. M., “Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: Implications for prognosis and clinical management,” *J Hepatol*, vol. 62, no. 5, pp. 1148–1155, May 2015

[163] Bril F. *et al.*, “Clinical value of liver ultrasound for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in overweight and obese patients,” *Liver International*, vol. 35, no. 9, pp. 2139–2146, Sep. 2015

[164] Selvaraj E. A. *et al.*, “Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis,” *J Hepatol*, vol. 75, no. 4, pp. 770–785, Oct. 2021

[165] Savvidou S., Karatzidou K., Tsakiri K., Gagalis A., Hytiroglou P., and Goulis J., “Circulating adiponectin levels in type 2 diabetes mellitus patients with or without non-alcoholic fatty liver disease: Results of a small, open-label, randomized controlled intervention trial in a subgroup receiving short-term exenatide,” *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 113, pp. 125–134, Mar. 2016

[166] Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Печень и питание. “Оптимальная диета при неалкогольной жировой болезни печени,” *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.*, Т. 28, № 5, с. 105–116, Ноябрь 2018

[167] Marchesini G. *et al.*, “Nonalcoholic Fatty Liver Disease,” *Diabetes*, vol. 50, no. 8, pp. 1844–1850, Aug. 2001

[168] DeFronzo R. A., Tobin J. D., and Andres R., “Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance.,” *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 237, no. 3, p. E214, Sep. 1979

[169] Bugianesi E. *et al.*, “Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms,” *Diabetologia*, vol. 48, no. 4, pp. 634–642, Apr. 2005

[170] Mantovani A., Byrne C. D., Bonora E., and Targher G., “Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Risk of Incident Type 2 Diabetes: A Meta-analysis,” *Diabetes Care*, vol. 41, no. 2, pp. 372–382, Feb. 2018

[171] Younossi Z. M., Koenig A. B., Abdelatif D., Y. Fazel, Henry L., and Wymer M., “Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes,” *Hepatology*, vol. 64, no. 1, pp. 73–84, Jul. 2016

[172] Bril F. and Cusi K., “Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes: A Call to Action,” *Diabetes Care*, vol. 40, no. 3, pp. 419–430, Mar. 2017

[173] Lomonaco R. *et al.*, “Metabolic Impact of Nonalcoholic Steatohepatitis in Obese Patients With Type 2 Diabetes,” *Diabetes Care*, vol. 39, no. 4, pp. 632–638, Apr. 2016

[174] Gudowska M., Cylwik B., and Chrostek L., “The role of serum hyaluronic acid determination in the diagnosis of liver fibrosis,” *Acta Biochim Pol*, vol. 64, no. 3, pp. 451–457, Jul. 2017

[175] Polyzos S. A., Kountouras J., and Mantzoros C. S., “Leptin in nonalcoholic fatty liver disease: A narrative review,” *Metabolism*, vol. 64, no. 1, pp. 60–78, Jan. 2015

[176] Lee Y. *et al.*, “Association between betatrophin/ANGPTL8 and non-alcoholic fatty liver disease: animal and human studies,” *Sci Rep*, vol. 6, no. 1, p. 24013, Apr. 2016

[177] Cengiz M., Ozenirler S., and Kocabiyik M., “Serum β-trophin level as a new marker for noninvasive assessment of nonalcoholic fatty liver disease and liver fibrosis,” *Eur J Gastroenterol Hepatol*, vol. 28, no. 1, pp. 57–63, Jan. 2016

[178] Kirk B., Feehan J., Lombardi G., and Duque G., “Muscle, Bone, and Fat Crosstalk: the Biological Role of Myokines, Osteokines, and Adipokines,” *Curr Osteoporos Rep*, vol. 18, no. 4, pp. 388–400, Aug. 2020

[179] Petta S, Gastaldelli A, Rebelos E, Bugianesi E, Messa P, Miele L, Svegliati-Baroni G, Valenti L, Bonino F. “Pathophysiology of Non Alcoholic Fatty Liver Disease,” *Int J Mol Sci.*, vol. 11; no. 17, p. 2082. 2016.

[180] Han D. *et al.*, “Serum Resistin Levels in Adult Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis,” *J Clin Transl Hepatol*, vol. 000, no. 000, pp. 000–000, May 2021

[181] Cho Y. K. *et al.*, “Factors affecting the serum levels of adipokines in Korean male patients with nonalcoholic fatty liver disease.,” *Hepatogastroenterology*, vol. 54, no. 77, pp. 1512–6.

[182] Tsochatzis E. *et al.*, “Serum adipokine levels in chronic liver diseases: Association of resistin levels with fibrosis severity,” *Scand J Gastroenterol*, vol. 43, no. 9, pp. 1128–1136, Jan. 2008

[183] Altun Ö. *et al.*, “Serum Angiopoietin-like peptide 4 levels in patients with hepatic steatosis,” *Cytokine*, vol. 111, pp. 496–499, Nov. 2018

[184] Ismaiel A., Leucuta D.-C., Popa S.-L., and Dumitrascu D. L., “Serum Visfatin Levels in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fibrosis: Systematic Review and Meta-Analysis,” *J Clin Med*, vol. 10, no. 14, p. 3029, Jul. 2021

[185] Machado M. v. and Cortez-Pinto H., “Non-invasive diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease. A critical appraisal,” *J Hepatol*, vol. 58, no. 5, pp. 1007–1019, May 2013

[186] Das P., Bhattacharjee D., Bandyopadhyay S. K., Bhattacharya G., and Singh R., “Association of obesity and leptin with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus in Indian population.,” *Indian J Physiol Pharmacol*, vol. 57, no. 1, pp. 45–50.

[187] Wang Y. *et al.*, “Plasma adiponectin levels and type 2 diabetes risk: a nested case-control study in a Chinese population and an updated meta-analysis,” *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 406, Dec. 2018

[188] Panzitt K., Zollner G., Marschall H.-U., and Wagner M., “Recent advances on FXR-targeting therapeutics,” *Mol Cell Endocrinol*, vol. 552, p. 111678, Jul. 2022

[189] Yang Z.-X., Shen W., and Sun H., “Effects of nuclear receptor FXR on the regulation of liver lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease,” *Hepatol Int*, vol. 4, no. 4, pp. 741–748, Dec. 2010

[190] Aguilar-Olivos N. E. *et al.*, “The nuclear receptor FXR, but not LXR, up-regulates bile acid transporter expression in non-alcoholic fatty liver disease,” *Ann Hepatol*, vol. 14, no. 4, pp. 487–493, Jul. 2015, doi: 10.1016/S1665-2681(19)31170-6.

[191] Sharifnia T. *et al.*, “Hepatic TLR4 signaling in obese NAFLD,” *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 309, no. 4, pp. G270–G278, Aug. 2015

[192] Kanuri G. *et al.*, “Expression of toll-like receptors 1-5 but not TLR 6-10 is elevated in livers of patients with non-alcoholic fatty liver disease,” *Liver International*, vol. 35, no. 2, pp. 562–568, Feb. 2015

[193] Боголюбова А.В., Мишина Е.Е., Богомолов П.О., Мациевич М.В., Кокина К.Ю., Майоров А.Ю., Белоусов П.В. “Экспрессия Toll-подобных рецепторов TLR2, TLR3, TLR4 и провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени,” *Медицинская иммунология.* Т. 21, №. 5, с. 945–952, Дек. 2019