

На правах рукописи

ГЕЙВАНДОВА ТАТЬЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ
И ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОЖИРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С
НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ**

3.1.18 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Ставрополь – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Ягода Александр Валентинович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии, заведующий кафедрой

Официальные оппоненты:

Ефименко Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», Пятигорский научно-исследовательский институт курортологии, заместитель генерального директора по научной работе – руководитель

Левитан Болеслав Наумович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра факультетской терапии и профессиональных болезней с курсом последипломного образования, заведующий кафедрой

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Защита состоится «___» _____ 2023 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 21.2.070.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (355017, Ставрополь, ул. Мира, 310).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ставропольского государственного медицинского университета по адресу: 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310 и на сайте www.stgmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Корой Павел Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время неалкогольная жировая болезнь печени является одним из доминирующих заболеваний печени в мире. Распространенность НАЖБП растет, у части больных приобретает прогрессирующий характер, что приводит к значительному увеличению затрат медицинских ресурсов (Cheung A. et al, 2019). Рост заболевания тесно связан с происходящей в мире пандемией ожирения. Уже в 2016 году, по данным Всемирной организации здравоохранения, более 1,9 млрд взрослых имели избыточную массу тела, из них более 650 млн страдали ожирением (Дедов И.И. и др., 2021; World Health Organization, 2018). Прогнозируют, что к 2030 году 60% населения планеты будут иметь ожирение или избыточную массу тела, если сохранится имеющаяся тенденция роста ожирения (Kelly T. et al., 2008). В России в 2016 году лица с избыточной массой тела составляли 62,0%, а с ожирением – 26,2% (Дедов И.И. и др., 2016). Распространенность НАЖБП увеличивается до двух третей у лиц с ожирением и присутствует более, чем у 90% лиц с ожирением третьей степени (Lazo M., Clark J.M., 2008).

Неалкогольная жировая болезнь печени является одной из ведущих причин хронических заболеваний печени в США, где диагностируется у 20-30% населения (Cotter T.G., Rinella M., 2020). Считается, что НАЖБП поражает почти 25% населения планеты (Younossi Z.M. et al., 2016). В России многоцентровое исследование DIREG2 продемонстрировало наличие НАЖБП у 37,3% пациентов амбулаторного звена (Ивашкин В.Т. и др., 2015). Неалкогольный стеатогепатит как клинический вариант НАЖБП (5-20% всех случаев) становится ведущим показанием для трансплантации печени и одной из причин развития гепатоцеллюлярной карциномы (Weiß J. et al., 2014; Geh D. et al., 2021; Lee Y.-T. et al., 2021; Pinyol R. et al., 2021). Выраженный фиброз/цирроз печени развивается в 10-20% случаев стеатогепатита (Weiß J. et al., 2014).

НАЖБП принято рассматривать как одно из ассоциированных с метаболическим синдромом заболеваний или как патогенетическую детерминанту метаболического синдрома (Burne C.D., Targher G., 2015; Lonardo A., et al., 2015; Younossi Z.M. et al., 2016). При этом появляется все больше доказательств, подтверждающих представление о НАЖБП как о предшественнике сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома (Anstee Q.M. et al., 2013). Важным патогенетическим звеном ассоциированной с ожирением НАЖБП является наличие нарушения системного энергетического баланса, приводящее к избытку субстратов, преимущественно углеводов и жирных кислот. При этом в настоящее время НАЖБП рассматривают как заболевание с мультифакторным патогенезом, при котором важная роль отводится инсулинорезистентности, липотоксичности, митохондриальной дисфункции, дисбалансу цитокинов и адипокинов, приводящих наряду с воздействием экологических и генетических факторов, к развитию воспалительной реакции в ткани печени, активации иннантного иммунитета и микробиоты кишечника, нарушению функционирования оси «кишечник-печень» (Лавренова Е.А., Драпкина О.М., 2020; Burne C.D.,

Targher G., 2015; Fang Y.L., 2018; Xian Y.X., et al., 2021). Однако многие аспекты патогенеза остаются недостаточно понятными.

Степень разработанности темы исследования. Особый интерес вызывает генетическая детерминированность ожирения и, особенно, НАЖБП. В патогенезе жировой болезни печени обсуждается участие полиморфизма генов, кодирующих различные звенья обмена липидов (гены микросомального триглицеридного трансферного протеина, аполипопротеинов С3 и Е), роль генов эндотоксинового рецептора CD14, ангиотензина II типа 1, TNF- α , TGF- β , супероксиддисмутаза-2, рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором – PPARs, пататиноподобного фосфолипазного домена, содержащего белок 3 – PNPLA3, кодирующего белок липидной капли и многих других (Ахмедов В.А., Меликов Т.И., 2019; Драпкина О.М., Буеверов А.О., 2019; Sazci A. et al., 2008; Petersen K.F. et al., 2010; Al-Serri A. et al., 2011; Dongiovanni P., 2015). Все эти мутации способны повышать риски развития стеатогепатита и прогрессирования фиброза.

При НАЖБП, развивающейся на фоне ожирения, наибольший интерес вызывают полиморфизмы генов, кодирующих адипокины. Так, при НАЖБП чаще, чем в общей популяции, отмечены олигонуклеотидные полиморфизмы адипонектина 45ТТ и 276ГТ, которые коррелируют с тяжестью заболевания печени (Ахмедов В.А., Меликов Т.И., 2019). Лептин – важный адипокин, являющийся сигналом для отрицательной обратной связи в центральной нервной системе, способный регулировать аппетит и метаболизм (Kelesidis T. et al., 2010). Мутации в генах лептина и его рецептора могут приводить к гиперлептинемии и лептинорезистентности, которые рассматриваются как один из возможных механизмов развития ожирения (Lee J.H. et al., 2001). При ожирении наблюдается повышенная экспрессия гена лептина в жировой ткани, что приводит к повышению уровня циркулирующего лептина. Имеются факты, свидетельствующие о присутствии лептинорезистентности у лиц с НАЖБП (Huang X.D. et al., 2008). Полиморфизм гена рецептора лептина (Gln223Arg) способен быть фактором риска развития жировой болезни печени (Li X.-L. et al., 2016). Аллель 223Gln в гомозиготном состоянии преобладает при НАЖБП по сравнению со здоровыми людьми (Zhang C. et al., 2014). Рецептор лептина принадлежит к семейству цитокинов 1 класса и может служить маркером чувствительности тканей к лептину (Yang R. et al., 2007). Циркулирующая растворимая форма рецептора лептина – основной лептин-связывающий протеин, формирующий комплексы с лептином. Баланс между свободной и связанной формами лептина определяет его биодоступность (Lahlou N. et al., 2000). При этом данные о влиянии полиморфизма Gln223Arg LEPR на уровни в крови лептина и его растворимого рецептора при жировой болезни печени немногочисленны. Уточнение роли ПЕН Gln223Arg LEPR в нарушениях продукции лептина и sLep-R у больных НАЖБП на фоне ожирения может иметь важное клиническое значение для понимания механизмов развития лептинорезистентности и поиска новых биомаркеров жировой болезни печени.

Мощными генетическими факторами, предрасполагающими к развитию ожирения, являются полиморфизмы гена FTO (fat mass and obesity associated) (Fawwad A. et al., 2011). Генетическая вариабельность в локусе FTO оказывает значительное влияние на возникновение ожирения, инсулинорезистентности и способствует гиперлептинемии (Do R. et al., 2008). Аллель А гена FTO (rs9939609) и гомозиготный генотип AA ассоциированы с избыточной массой тела, абдоминальным ожирением, сниженным липолизом, нарушением контроля аппетита и развитием сахарного диабета 2-го типа в сравнении с носителями генотипов ТА и ТТ (Насибулина Э.С. и др., 2012; Хромова Н.В. и др., 2013). Вместе с тем влияние мутаций гена FTO на патогенез НАЖБП и, особенно, стеатогепатита изучено недостаточно. Имеются сведения, что экспрессия FTO повышается у пациентов с НАЖБП, а также в эксперименте на животных, вызывая аккумуляцию липидов в печени (Lim A. et al., 2016; Guo J. et al., 2018; Kang H. et al., 2018). Детализация роли мутаций гена FTO может внести значительный вклад в понимание механизмов развития НАЖБП.

Цель исследования: изучить клиническое и прогностическое значение биохимических и генетических маркеров ожирения у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением.

Задачи исследования:

1. Определить распространенность олигонуклеотидных полиморфизмов гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO rs9939609 Т/А у больных неалкогольной жировой болезнью печени.
2. Определить взаимосвязь изученных генетических полиморфизмов с основными клиническими и лабораторными синдромами при неалкогольной жировой болезни печени.
3. Определить зависимость основных клинико-лабораторных синдромов патологии печени от уровней лептина и растворимого рецептора лептина в крови больных.
4. Изучить зависимость уровней циркулирующих лептина и растворимого рецептора лептина от наличия олигонуклеотидных полиморфизмов генов рецептора лептина.
5. Изучить взаимосвязь полиморфизмов гена рецептора лептина, гена FTO, содержания в крови лептина и растворимого рецептора лептина с гистологической картиной стеатоза и фиброза печени для разработки неинвазивных критериев диагностики.
6. На основании полученных данных выделить группы пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, имеющих высокий риск прогрессирования фиброза для дифференцированного подхода к выбору лечебной тактики.

Научная новизна исследования. Впервые одновременно изучены распространенность олигонуклеотидных полиморфизмов гена рецептора лептина Gln223Arg, гена FTO, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора в региональной популяции больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением.

Впервые выявлено, что при ассоциированной с ожирением НАЖБП, генотип Arg223Arg и аллель 223Arg гена LEPR, а также генотип TT гена FTO встречаются реже, тогда как генотип FTO AA и аллель A – чаще, чем у здоровых.

Впервые доказано, что при ожирении 2-й и 3-й степеней реже встречаются генотипы Arg223Arg, Gln223Arg и аллель 223Arg гена рецептора лептина, и чаще определяются генотипы AA и аллель A гена FTO, чем у пациентов, имеющих ожирение не выше 1-й степени.

Впервые продемонстрировано, что при неалкогольной жировой болезни печени наблюдаются гиперлептинемия и снижение содержания sLep-R, а уровни лептина напрямую зависят от ИМТ и соотношения ОТ/ОБ.

Впервые доказано, что у пациентов с гомозиготным генотипом Arg223Arg содержание в крови лептина и индекс свободного лептина ниже, чем у пациентов с наличием минорного аллеля 223Gln. Повышение в крови ХсЛПНП и триглицеридов у больных НАЖБП зависит от присутствия аллеля 223Gln и коррелирует с содержанием лептина и соотношением Lep/sLep-R, а аллель A гена FTO сопровождается гипертриглицеридемией.

Впервые выявлено, что у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени при сопутствующем сахарном диабете чаще встречаются аллель 223Gln гена рецептора лептина, аллель A гена FTO и высокие уровни лептина, а также сниженный уровень его растворимого рецептора сравнительно с больными без сахарного диабета.

Впервые показано влияние полиморфизмов гена LEPR и гена FTO, концентрации в крови лептина и его растворимого рецептора на развитие мезенхимально-воспалительного синдрома.

Впервые показано, что генотип Arg223Arg LEPR сопутствует фиброзу 1-й и 2-й степеней, а аллель 223Gln и минорный аллель A гена FTO чаще встречаются при стеатозе 2-й и 3-й степеней и фиброзе 3-й и 4-й стадий, выявляемыми при ультразвуковом исследовании печени.

Впервые установлено, что показатели лептина и индекса свободного лептина повышены при стеатозе 2-й и 3-й степеней и у лиц с продвинутым фиброзом, а стадии фиброза 1 и 2 ассоциированы со сравнительно высокими уровнями sLep-R. При изучении гистологии биоптатов печени выявлено, что аллель 223Gln LEPR и аллель A гена FTO чаще встречается при стеатозе 2-й и 3-й степеней и ассоциированы с наличием стеатогепатита.

Впервые доказано, что при стеатозе 2-й и 3-й степеней, фиброзе 2-й и 3-й стадий, а также при неалкогольном стеатогепатите повышены значения лептина в крови и индекса свободного лептина, а содержание sLep-R снижено сравнительно с пациентами, имеющими минимальную выраженность стеатоза и фиброза печени без признаков стеатогепатита.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Комплексное изучение полиморфизмов гена рецептора лептина и гена FTO, содержания в крови лептина и его растворимого рецептора, обнаружение их взаимосвязи со степенью ожирения, основными биохимическими синдромами и выраженно-

стью стеатоза и фиброза печени расширяют имеющиеся представления о механизмах прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени.

Установленные зависимости между количествами лептина, его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени и степенью стеатоза, стадией фиброза печени, наличием морфологических признаков стеатогепатита позволяют использовать изученные показатели как дополнительные неинвазивные критерии выраженности жировой дистрофии печени и печеночного фиброза, а также наличия неалкогольного стеатогепатита.

Доказанные взаимосвязи между неблагоприятными аллелем 223Gln LEPR и аллелем А гена FTO, с одной стороны, и выраженностью стеатоза и фиброза печени, с другой, позволяют считать эти генетические полиморфизмы неблагоприятными предикторами прогрессирующего процесса в печени при НАЖБП.

Выявленный факт встречаемых чаще минорных аллелей генов LEPR и FTO у пациентов, имеющих неалкогольный стеатогепатит, сравнительно со стеатозом печени, позволяет считать эти мутации прогностически неблагоприятными для развития НАСГ.

Методология и методы исследования. Методологическую базу диссертации составили труды отечественных и зарубежных авторов, в которых представлены вопросы патогенеза НАЖБП, ассоциированной с ожирением, освещены данные о роли различных биологических и генетических маркеров ожирения в развитии жировой дистрофии печени и в фиброгенезе.

Диссертационная работа представляет собой прикладное научное исследование, решающее актуальную задачу оптимизации лечебно-диагностических мероприятий путем выявления различных биомаркеров, прогнозирующих течение и прогрессирование заболевания у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением.

Объектом исследования явились 114 пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и 72 практически здоровых добровольца.

Предметом исследования послужила диагностика генетических и биохимических маркеров ожирения у больных НАЖБП. Использовались общие методы эмпирического исследования (наблюдение, измерение, сравнение), специальные (физикальные, лабораторно-инструментальные методики, получение биологических образцов, гистологическое исследование, иммуноферментный анализ лептина, растворимого рецептора лептина, генетический анализ олигонуклеотидных полиморфизмов гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO), статистические методы.

Основные положения, выносимые на защиту:

- различия генотипов гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и здоровыми лицами, а также между пациентами с ожирением 1-й степени и больными со 2-й и 3-й степенями ожирения;

- повышение в крови содержания лептина, снижение концентрации растворимого рецептора лептина и их обратная зависимость у больных неалкогольной жировой болезнью печени;

- наличие взаимосвязи повышения уровней в крови лептина, снижения его растворимого рецептора и неблагоприятных генотипов гена рецептора лептина и гена FTO при неалкогольной жировой болезни печени с дислипидемией и сахарным диабетом;

- зависимость выраженности стеатоза и фиброза печени от повышения концентрации в крови лептина, низких уровней растворимого рецептора, наличия минорных аллелей гена рецептора лептина и гена FTO;

- возможность использования показателей содержания в крови лептина и растворимого рецептора лептина для неинвазивной диагностики неалкогольного стеатогепатита;

- возможность выделения групп риска прогрессирующего течения неалкогольной жировой болезни печени при наличии у пациентов неблагоприятных генотипов гена рецептора лептина и гена FTO, а также высоких значений в крови лептина и сниженных показателей его растворимого рецептора.

Степень достоверности исследования. Достоверность исследования подтверждается достаточным объемом и корректным формированием исследуемых выборок, высокой информативностью современных методов диагностики, адекватностью методов математической обработки данных поставленным задачам. Для статистической обработки полученных результатов использовались компьютерные программы «Microsoft Office Excel 2010» с встроенной подпрограммой «Attestat 10.5.1», «IBM SPSS Statistics 21».

Выводы и практические рекомендации сформулированы, аргументированы и являются логическим следствием полученных результатов исследования.

Личный вклад автора в получении научных результатов. При непосредственном участии диссертанта на основе патентно-информационного поиска, анализа научной литературы, обоснования научного направления сформулированы цель и задачи, определены критерии включения и невключения, дизайн и материал исследования. Диссертантом отобраны и обследованы пациенты с неалкогольной жировой болезнью печени, изучены данные их клинических, лабораторных и гистологических исследований, проведено анкетирование нарушений пищевого поведения пациентов, обследованы лица группы контроля, заполнены индивидуальные регистрационные карты, информация из которых внесена в электронную базу. Автор диссертации принимал участие в определении содержания лептина и растворимого рецептора лептина в крови обследованных лиц, а также участвовал в генетическом анализе мутаций рецептора лептина и гена FTO. Исследователь осуществил статистический анализ данных. Автором были проанализированы, систематизированы полученные результаты, сопоставлены с данными других исследователей, на основании чего сформулированы выводы и практические рекомендации. Диссертантом были написаны все разделы диссертационного исследования и внедрены в клиническую практику практические рекомендации. Результаты работы обсуждены и

отражены автором в публикациях и докладах, в которых личный вклад автора является определяющим.

Практическое использование результатов исследования. Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую работу отделений ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница» и АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр» г. Ставрополя. Полученные сведения диссертационной работы используются в лекционном материале и на практических занятиях со студентами, ординаторами, врачами и аспирантами кафедр госпитальной терапии, поликлинической терапии Ставропольского государственного медицинского университета.

Публикации и апробация результатов работы. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований (Эффективная фармакотерапия, 2019; Терапия, 2019, 2021).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XXI, XXII, XXIII, XXIV и XXVII Российских конгрессах «Гепатология сегодня» (Москва, 2016, 2017, 2018, 2019, 2023), на XX и XXIV Российских гастроэнтерологических неделях (Москва, 2014, 2018), на совместном заседании кафедр госпитальной терапии и факультетской терапии Ставропольского государственного медицинского университета (Ставрополь, 2023).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.18. Внутренние болезни. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данной специальности, пунктам 1-3.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста, содержит 37 таблиц, 22 рисунка, 3 клинических наблюдения, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, библиографического указателя, включающего 291 источников литературы, из которых 22 отечественных и 269 иностранных, 1 приложения.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Ставропольского государственного медицинского университета. Номер государственной регистрации 012008505941.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Обследовано 114 пациентов с НАЖБП с сопутствующим ожирением или избыточной массой тела, находившихся на обследовании и лечении в гастроэнтерологическом отделении ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница» и/или наблюдавшихся амбулаторно в краевом консультативном гепатологическом кабинете.

Мужчин было 58, женщин – 56. Возраст больных колебался от 22 до 70 лет, средний возраст составил $51,4 \pm 1,34$ лет. Критерии включения: наличие признаков стеатоза печени при УЗИ и/или гистологическом исследовании, сопутствующее ожирение или избыточная масса тела, информированное добро-

вольное согласие на участие в исследовании. Критерии невключения: употребление алкоголя в гепатотоксических дозах, инфицирование гепатотропными вирусами, лекарственное поражение печени, аутоиммунные заболевания и болезни накопления печени, сахарный диабет 1-го типа, сахарный диабет 2-го типа инсулинопотребный, наличие онкологических заболеваний в настоящее время или в анамнезе.

Контрольная группа состояла из 72 здоровых добровольцев с ИМТ не более 25 кг/м². Эта группа была сопоставима с больными по полу и возрасту: женщин было 35, мужчин – 37, средний возраст здоровых лиц составил 47,1±3,45 лет. Участники контрольной группы не имели компонентов метаболического синдрома, тяжелых сопутствующих соматических заболеваний.

Тип выполненной работы – открытое проспективное исследование. На основании результатов клинико-лабораторного, инструментального, морфологического исследования НАЖБП была диагностирована у 114 пациентов.

Среднее значение ИМТ по всей группе составило 35,46±0,92 кг/м². Минимальный показатель ИМТ у пациента с НАЖБП был равен 26 кг/м², максимальный – 57,5 кг/м². Преобладали пациенты с 1-й степенью ожирения – 33,3% (38 чел.), больных со 2-й степенью ожирения было – 27,2% (31 чел.), с 3-й степенью – 19 чел. (16,7%), с ИМТ от 25 до 29,9 кг/м² (избыточная масса тела) – 26 чел. (22,8%).

Жалобы на астению отмечали 71% больных, дискомфорт в области правого подреберья беспокоил 80,2% пациентов, диспепсические симптомы были характерны для 55,2% пациентов. Нарушение стула отмечали 33,3% больных. Геморрагии (носовые кровотечения, кровоточивость десен, кровоподтеки и т.д.) отмечены у 3 пациентов – больных с признаками формирования цирроза печени, синдромом гиперспленизма с тромбоцитопенией, но эти клинические проявления не были выраженными.

Желтушность кожи и склер определялась у 4-х пациентов (3,5%). Кожные печеночные знаки в виде телеангиэктазий, пальмарной/плантарной эритемы наблюдались у 11 (9,6%). Увеличенную печень пальпировали у 101 больного (88,5%), селезенку удалось пропальпировать только у 3 (2,6%).

Показатели обмена липидов у больных отличались от нормы: наблюдалось повышение средних уровней в крови общего холестерина (5,83±0,23 ммоль/л), ХсЛПНП (3,6±0,22 ммоль/л), а также триглицеридов (2,85±0,35 ммоль/л). Средние значения ХсЛПВП находились на нижней границе нормы.

Тощаковые показатели глюкозы и инсулина у пациентов имели тенденцию к повышению. В качестве показателя инсулинорезистентности использовали вычисление НОМА-индекса, медиана которого – 4,8 (4,2 – 7,2) значительно превышала нормальные значения. Клинически при этом у 30 больных (26,3%) было диагностировано нарушение толерантности к глюкозе, а у 28 (24,5%) сахарный диабет 2-го типа.

У 66 чел. (57,9%) заболевание протекало с повышением активности аминотрансфераз не более 1,5 норм (нормальные или субнормальные показатели). Средние значения маркеров цитолитического синдрома: АлАТ – 56,29±6,9 Ед/л,

АсАТ – $49,67 \pm 7,7$ Ед/л. У 35 больных (30,7%) показатели аминотрансфераз колебались от 1,5 до 3 норм и только у 13 (11,4%) были повышены более, чем в 3 раза. Активность ГГТ ($97,27 \pm 16,34$ Ед/л) превышала нормальные показатели, у 53,5% больных активность фермента не была повышена. Показатели билирубина ($14,42 \pm 0,89$ мкмоль/л) и ЩФ ($96,5 \pm 7,38$ Ед/л) в среднем в группе больных не превышали норму. Однако у 17 (14,9%) из них отмечалось повышение активности ЩФ и ГГТ, что было характерно для холестатического синдрома.

У 45 (39,4%) пациентов имелись признаки мезенхимально-воспалительного синдрома, определяемого по уровням С-реактивного протеина, СОЭ и γ -глобулинов. Сниженное содержание в крови общего белка и альбумина как признак нарушения белково-синтетической функции печени, наблюдалось у 4 пациентов. В этих случаях отмечались признаки формирования ЦП, но без декомпенсации (развития отёчно-асцитического синдрома).

По результатам УЗИ печени данные о степени стеатоза распределились следующим образом: стеатоз 1-й степени отмечался у 40 (35,1%), стеатоз 2-й степени – у 46 (40,3%), стеатоз 3-й степени у 28 больных (24,5%). Для определения уровня фиброза больным выполнялась эластометрия печени на аппарате «SuperSonic Imagine Aixplorer». Фиброз F0-1 регистрировали у 45 (39,5%), F2 – у 40 (35,1%), F3 – у 26 пациентов (22,8%). У 3-х больных (2,6%) НАЖБП отмечались показатели $>12,5$ кПа, что соответствовало уровню фиброза F4.

Биопсия печени была выполнена 37 пациентам с НАЖБП. Гистологическое исследование показало у 14 (37,8%) пациентов наличие стеатоза 1-й степени по Brunt E.M., 2-й степени – у 13 (35,1%) больных и 3-й степени у – 10 (27,1%). В 16 (43,2%) случаях был определен фиброз F1 или отсутствие признаков фиброза, у 12 чел. – F2 (32,4%), в 9 случаях регистрировали стадию фиброза F3 (24,3%). Если по клиническим и лабораторно-инструментальным данным диагностировали цирроз печени (F4), биопсию печени этим больным не проводили. У 19 пациентов был верифицирован неалкогольный стеатогепатит – 51,3%. Эти больные имели по шкале NAS-II более 5 баллов.

Артериальная гипертензия регистрировалась у 35 пациентов (31%). Другие сопутствующие болезни были представлены патологией билиарного тракта, заболеваниями пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, поджелудочной железы, функциональной патологией кишечника. При включении в исследование сопутствующие заболевания у больных были в состоянии ремиссии.

По результатам анкетирования (опросники DEBQ) у всех пациентов были выявлены те или иные нарушения пищевого поведения. Чаще имело место нарушение пищевого поведения по эмоциогенному типу (52,6%) и экстернальному типу (16,6%), а также сочетание этих вариантов (9,6%). Ограничительный тип наблюдали реже – всего в 10,5% случаев. Кроме того, отмечались пациенты с сочетанными видами нарушений пищевого поведения.

При назначении терапии акцент делали на ограничения суточного рациона пациента. Согласно рекомендациям Российской ассоциации эндокринологов, ориентировались на снижение массы тела на 5-10% за 3–6 месяцев терапии и стабилизацию результата в течение года. Более значимую потерю массы тела

(15-20% и более) рекомендовали больным с ИМТ ≥ 35 кг/м². По необходимому питанию пациентам выдавались индивидуальные рекомендации. Рекомендовали регулярные аэробные физические упражнения продолжительностью не менее 30 минут ежедневно или не менее 150 минут в неделю. При назначении медикаментозной терапии применяли индивидуальный подход. 22 пациента с СД получали метформин, 39 – статины. В качестве гепатопротектора назначали препараты УДХК – 35 чел., препараты, содержащие глицирризиновую кислоту (Фосфоглив форте), – 48 чел., бициклол – 19 чел., адеметионин – 12 чел.

Забор крови для выполнения специальных методов исследования производился из кубитальной вены в утренние часы строго натощак. Олигонуклеотидный полиморфизм гена LEPR (Gln223Arg) и олигонуклеотидный полиморфизм T/A гена FTO (rs9939609) определяли с помощью аллельспецифической ПЦР (ООО НПФ «Литех») с последующей электрофоретической детекцией.

Методом иммуноферментного анализа в образцах плазмы крови определяли содержание лептина с помощью коммерческих тест-систем «Diagnostics Biochem Canada Inc.» и растворимого рецептора лептина с помощью наборов фирмы «BioVendor» (Чехия).

Полученные результаты были статистически обработаны с помощью компьютерной программы «Microsoft Office Excel 2010» с встроенной подпрограммой «Attestat 10.5.1», «IBM SPSS Statistics 21». У групп с нормальным распределением данных применяли критерий Стьюдента, при ненормальном распределении данных использовали U-критерий Манна-Уитни. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$. Анализ корреляционных зависимостей проводили с определением критерия Спирмэна. Применяли ROC-анализ с построением ROC-кривой для вычисления оптимального значения величины порога отсеечения. Диагностическую ценность признаков определяли в % их чувствительностью, специфичностью, положительной и отрицательной предсказательной ценностью, точностью. Для определения степени риска изучали отношение шансов – ОШ и его 95% доверительный интервал.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При НАЖБП, ассоциированной с ожирением, генотип Arg223Arg и аллель 223Arg встречаются реже, чем в группе контроля (табл. 1). Гетерозиготный вариант Gln223Arg демонстрировал тенденцию к большей частоте у больных ($p=0,056$). Аллель 223Gln при НАЖБП определялся чаще, чем у здоровых. Присутствие аллеля Gln оказалось предрасполагающим к развитию НАЖБП – ОШ = 1,61 (1,04 – 2,49), $p=0,031$. Данные о частотах аллелей и генотипов ПЕН Gln223Arg гена LEPR соответствовали равновесию Харди-Вайнберга.

Уровень лептина в крови и индекс свободного лептина у пациентов с НАЖБП были повышены, а содержание sLep-R – снижено (табл. 2). Имелась отрицательная корреляция между концентрациями в крови лептина и sLep-R у больных НАЖБП ($r_s = -0,61$; $p=0,0005$), что отражало взаимоотношения в системе лептин – sLep-R. Соотношение Lep/sLep-R, отражающее биодоступность лептина, у пациентов с НАЖБП почти в 3 раза превышало подобный индекс у здоровых, демонстрируя наличие лептинорезистентности.

Таблица 1 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП и здоровых лиц

Генотипы и аллели	НАЖБП (n=114)	Здоровые лица (n=72)	p
Генотипы LEPR			
Arg223Arg	0,39 (n=44)	0,57 (n=41)	0,021
Gln223Arg	0,35 (n=40)	0,21 (n=15)	0,056
Gln 223Gln	0,26 (n=30)	0,22 (n=16)	0,35
Аллели Arg и Gln			
223Arg	0,56 (n=128)	0,67 (n=97)	0,04
223Gln	0,44 (n=100)	0,33 (n=47)	

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с НАЖБП и здоровыми лицами, критерий Манна-Уитни.

Таблица 2 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, ассоциированной с ожирением (Me (Q1-Q3))

Исследуемый параметр	НАЖБП (n=114)	Здоровые (n=42)	p
Лептин, нг/мл	27,8 (9 – 53,8)	11,75 (6,6 – 23,4)	0,0003
sLep-R, нг/мл	17,6 (15,2 – 21,2)	20,2 (16,9 – 25,6)	0,026
Lep/sLep-R	1,41 (0,45 – 3,4)	0,49 (0,24 – 1,02)	0,0002

Примечание: p – достоверность различий между больными НАЖБП и группой здоровых, критерий Манна-Уитни.

Был проведен анализ уровней в крови лептина и sLep-R при различных генотипах LEPR (табл. 3). Наличие у пациентов гомозиготного генотипа Arg223Arg сопровождалось сравнительно более низкими уровнями в крови лептина, чем у больных смешанной группы с наличием 223Gln (Gln223Arg + Gln223Gln). Содержание sLep-R в этих подгруппах практически не различалось, но индекс свободного лептина в присутствии аллеля 223Gln был выше, чем у гомозиготных лиц Arg223Arg.

Таблица 3 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, ассоциированной с ожирением, при разных генотипах LEPR (Me (Q1-Q3))

Исследуемый параметр	Генотип Arg223Arg (n=44)	Генотипы Gln223Arg+Gln223Gln (n=70)	p
Лептин, нг/мл	16,8 (9,0 – 31,35)	39,2 (16,5 – 54,3)	0,047
sLep-R, нг/мл	19,8 (15,9 – 20,3)	16,1 (14,1 – 20,9)	0,2
Lep/sLep-R	0,9 (0,37 – 1,63)	1,83 (0,7 – 3,5)	0,037

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с различными генотипами LEPR, критерий Манна-Уитни.

Распределение генотипов LEPR не зависело от пола и возраста пациентов. У женщин с НАЖБП содержание лептина было выше, чем у пациентов мужского пола, но уровни sLep-R в группах не различались. Соотношение

Lep/sLep-R у женщин соответственно оказалось выше, чем у лиц мужского пола. Уровни лептина и его рецептора не зависели от возраста пациентов.

В группе лиц с ожирением 2-й и 3-й степеней реже встречались генотип Arg223Arg (доля составила 0,2), аллель 223Arg (0,44) и чаще наблюдался генотип Gln223Arg (0,48) по сравнению с больными, имеющими ожирение не выше 1-й степени (соответственно Arg223Arg – 0,53, $p = 0,0005$; 223Arg – 0,66, $p = 0,017$; Gln223Arg – 0,25, $p = 0,018$). Выраженное ожирение (2-й и 3-й степеней) было ассоциировано с более высокими уровнями Lep в крови, при этом уровень sLep-R в этих группах не различался. В то же время индекс свободного лептина у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степеней был выше, чем у больных с показателями ИМТ, не превышающими 1-ю степень ожирения. Эти данные подтверждает также корреляционный анализ: уровень лептина имел прямую зависимость от ИМТ ($r_s = 0,31$; $p = 0,038$). Кроме того, показатели лептина в крови обнаруживали положительную корреляционную зависимость от индекса ОТ/ОБ ($r_s = 0,34$; $p = 0,04$), подтверждающую данные о взаимосвязи гиперлептинемии и лептинорезистентности с ожирением.

У пациентов, имеющих аллель 223Gln (суммарно генотипы Gln223Arg и Gln223Gln), были отмечены повышенные значения ХсЛПНП по сравнению с больными, имеющими гомозиготный генотип Arg223Arg, а также наиболее высокие показатели ТГ. Наблюдалась тенденция к сравнительно более высоким показателям общего холестерина в присутствии аллеля 223Gln ($p = 0,08$). Уровень лептина в крови имел прямую связь с показателями ХсЛПНП ($r_s = 0,29$) и ТГ ($r_s = 0,29$) – $p < 0,05$. Индекс Lep/sLep-R также напрямую коррелировал с уровнем ХсЛПНП ($r_s = 0,31$) и ТГ ($r_s = 0,37$) и не зависел от концентрации в крови общего Хс и значений ХсЛПВП. Найденные корреляции отражают взаимосвязь гиперлептинемии и лептинорезистентности с гиперлипидемией, связанной с липотоксичностью при НАЖБП.

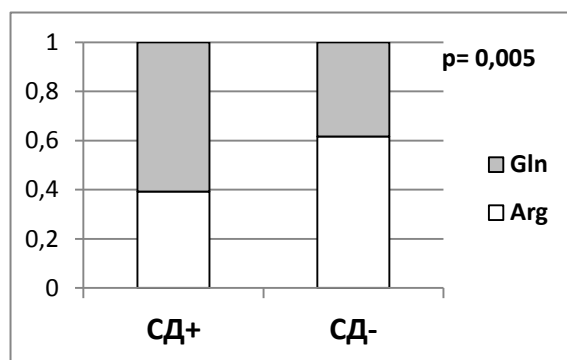


Рис. 1 – Распределение встречаемости аллелей 223Gln и 223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия сахарного диабета

Известно, что именно лептин способен влиять на восприимчивость гепатоцитов к сигналам инсулина, способствуя аккумуляции в клетках печени свободных жирных кислот, ведущей в итоге к инсулинорезистентности (Yang R. et al., 2007). Гомозиготный генотип Arg223Arg демонстрировал тенденцию к более частому присутствию у пациентов без СД, а гомозиготы Gln223Gln имели тенденцию к более частой встречаемости при СД, но эти закономерности ока-

записи недостоверными. При наличии у больных НАЖБП сахарного диабета аллель 223Gln встречался чаще, чем у пациентов без СД (рис. 1). Полученные данные демонстрируют у больных НАЖБП взаимосвязь аллеля 223Gln с развитием СД.

При имеющемся у пациентов СД уровни лептина были выше – 38,5 (27,8 – 60,9) нг/мл, а концентрация sLep-R 16,35 (14,1 – 19,5) нг/мл – ниже, чем у лиц без диабета – соответственно 17,2 (8,8 – 44,3) нг/мл и 19,85 (15,9 – 25,4) нг/мл; $p = 0,007$ и $p = 0,035$. Индекс Lep/sLep-R у больных с диабетом превышал аналогичный показатель пациентов с отсутствием СД: 2,57 (1,4 – 4,74) и 0,84 (0,39 – 2,74); $p = 0,006$. Имелась положительная корреляция между уровнем в крови лептина и значениями НОМА-индекса – $r_s = 0,39$, $p = 0,028$, а также индексом свободного лептина и НОМА-индексом – $r_s = 0,32$, $p = 0,041$, что характеризовало тесную связь лептина с состоянием инсулинорезистентности.

Частота распределения генотипов Gln223Arg гена LEPR не зависела от активности ферментов цитолиза и наличия синдрома холестаза. Синдромы цитолиза и холестаза не показывали взаимосвязи с содержанием в крови лептина и его растворимого рецептора. В то же время, МВС (45 больных) был ассоциирован с большей частотой присутствия генотипа Gln223Gln (0,38 vs 0,19; $p = 0,042$) и аллеля 223Gln (0,63 vs 0,37; $p = 0,013$). При синдроме мезенхимального воспаления имелось повышение лептина, индекса свободного лептина и относительно низкое содержание sLep-R, чем при отсутствии МВС.

Известна ассоциация тяжелого стеатоза с мутантными вариантами гена LEPR (Swellam M., Hamdy N., 2012). У наших пациентов с НАЖБП, имеющих выраженный стеатоз (2-й и 3-й ст.), по данным УЗИ, имелась тенденция к увеличению доли генотипа Gln223Gln LEPR, но эти данные оказались статистически недостоверными – $p = 0,07$. Однако аллель 223Gln был ассоциирован с выраженными ультрасонографическими признаками стеатоза (0,49 против 0,34; $p = 0,033$). Гомозиготный генотип Arg223Arg чаще встречался у 85 пациентов с невыраженным (F 1-2) фиброзом печени (0,43 vs 0,21 у 29 больных НАЖБП с F 3-4; $p = 0,048$), а фиброз F 3-4 стадии был ассоциирован с аллелем 223Gln (0,59 vs 0,4; $p = 0,02$). Указанные тенденции (недостоверные) прослеживались и с данными гистологии печени. Содержание лептина и соотношение Lep/sLep-R были выше у пациентов со стеатозом 2-й и 3-й степени и лиц с продвинутым фиброзом, а стадии фиброза 1 и 2 по METAVIR были ассоциированы со сравнительно высокими уровнями sLep-R.

При разной выраженности гистологически верифицированного стеатоза печени доля различных генотипов LEPR не различалась (табл. 4). Это могло быть обусловлено малыми количествами лиц в подгруппах. Однако аллель 223Gln при максимально выраженном стеатозе встречался чаще.

У пациентов с минимальным и умеренным фиброзом доли генотипов ПЕН гена рецепторов лептина достоверно не различались, хотя и отмечалась тенденция к более частой встречаемости генотипа Gln223Gln и аллеля 223Gln у больных НАЖБП с фиброзом F3. Видимо это было обусловлено небольшим

количеством пациентов с продвинутым фиброзом, а также отсутствием в данной подгруппе фиброза F4.

Таблица 4 – Распределение частот полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от гистологической картины в печени

Генотипы и аллели	Стеатоз 1-й ст. (n=14)	Стеатоз 2-й и 3-й ст. (n=23)	Фиброз F 1-2 ст. (n=28)	Фиброз F 3 ст. (n=9)
Генотипы LEPR				
Arg223Arg	0,5 (n=7)	0,22 (n=5)	0,36 (n=10)	0,22 (n=2)
Gln223Arg	0,36 (n=5)	0,39 (n=9)	0,39 (n=11)	0,33 (n=3)
Gln223Gln	0,12 (n=2)	0,39 (n=9)	0,25 (n=7)	0,45 (n=4)
Аллели Arg и Gln				
223Arg	0,68 (n=19)	0,41 (n=19)	0,55 (n=31)	0,39 (n=7)
223Gln	0,32 (n=9)	0,59* (n=27)	0,45 (n=25)	0,61 (n=11)

Примечание: n – количество наблюдений, * – достоверность различий между пациентами сравниваемых групп $p < 0,05$.

При стеатозе 1-й степени, по данным биопсии печени, содержание лептина в крови было ниже, чем при выраженном стеатозе – 9,3 (8,4 – 17,6) нг/мл vs 48,3 (34,3 – 61,6) нг/мл; $p = 0,0004$. Различались также и показатели sLep-R: при минимальном стеатозе уровни были выше (20,5 (19,8 – 24,4) нг/мл) сравнительно со стеатозом 2-й и 3-й степеней (16,05 (14,6 – 20,2) нг/мл; $p = 0,008$). Соответственно различия и индекс свободного лептина, который у больных с выраженным стеатозом значительно превышал подобный показатель при минимальной степени стеатоза – 2,9 (1,6 – 4,2) vs 0,5 (0,35 – 0,9).

При фиброзе стадии F 1-2 концентрация Lep в крови была ниже (9,3 (8,4 – 30,6) нг/мл), а уровень sLep-R (20,4 (18,8 – 26,2) нг/мл), наоборот, выше, чем при фиброзе стадии F 3 – соответственно 49,3 (24,5 – 58,5) нг/мл и 15,9 (13,7 – 16,7) нг/мл; $p = 0,0007$ для лептина и $p = 0,002$ для рецептора. Это приводило к более высокому индексу свободного лептина (2,95 (1,2 – 4,2)) при продвинутом фиброзе стадии F 3 сравнительно с аналогичным показателем при стадиях фиброза F 1-2 – 0,5 (0,3 – 1,5); $p = 0,0003$.

С помощью ROC-анализа были определены пороговые уровни лептина, sLep-R и Lep/sLep-R, которые прогнозируют вероятность тяжелого фиброза печени. Для фиброза стадии F 3 и выше были характерны концентрации Lep выше 32,2 нг/мл, sLep-R – ниже 18,5 нг/мл и соотношения Lep/sLep-R – выше 2,9. Соответственно значения AUC составили 0,8, 0,77 и 0,83. Для вычисленных пороговых значений ОШ составили: для лептина – 10,8 (2,2 – 52,1), для рецептора лептина – 9,1 (1,8 – 44,9), а для индекса свободного лептина – 11,3 (2,0 – 63,7).

Анализ долей различных генотипов LEPR показал, что достоверных различий в подгруппах пациентов с НАСГ и со стеатозом не было, однако у больных со стеатогепатитом чаще встречался аллель 223Gln по сравнению с лицами со стеатозом печени (рис. 2). Наличие в биоптатах печени признаков НАСГ было связано с достоверно повышенными уровнями лептина – 49,3 (23,5 – 57,8) нг/мл и индекса свободного лептина – 2,95 (1,23 – 4,05), а также со снижением в крови уровня sLep-R – 15,9 (13,9 – 16,7) нг/мл сравнительно с пациентами с

простым стеатозом печени – соответственно 12,5 (8,4 – 31,8) нг/мл, $p = 0,003$; 0,61 (0,34 – 1,59), $p = 0,001$; 20,4 (18,5 – 25,4) нг/мл, $p = 0,004$.

Пороговые уровни изучаемых показателей, прогнозирующие морфологические признаки НАСГ в печеночных биоптатах, оказались аналогичными характеристикам фиброза стадии $\geq F 3$: Lep $\geq 32,2$ нг/мл (AUC = 0,76), sLep-R – $\leq 18,5$ нг/мл (AUC = 0,75) и отношения Lep/sLep-R – $\geq 2,9$ (AUC = 0,78). Но надо отметить, что среди пациентов с диагностированным стеатогепатитом все имели фиброз F2 или F3 стадии. Показатель ОШ для лептина оказался равным 9,8 (2,16 – 44,3), для sLep-R – 13,1 (2,7 – 62,8) и для Lep/sLep-R – 17,3 (2,9 – 100,6).

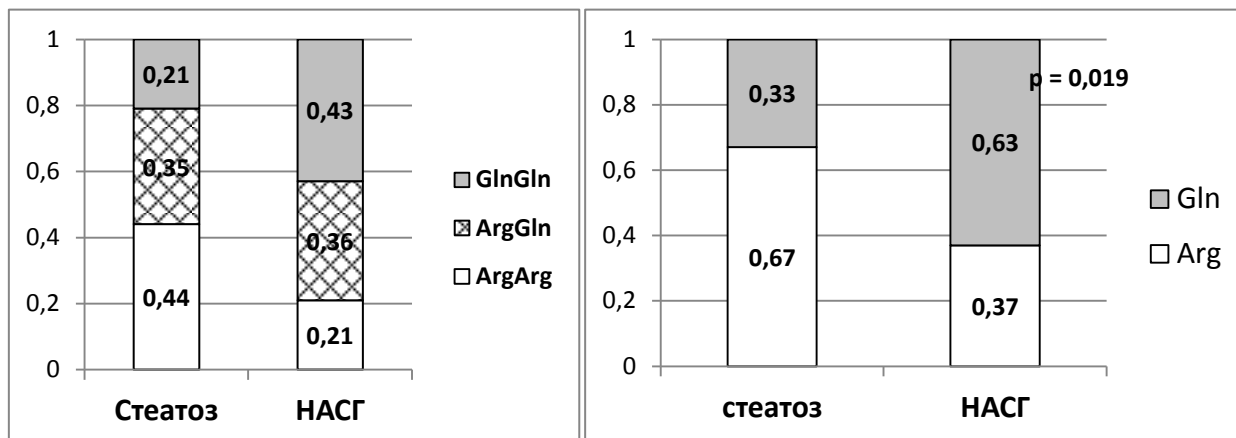


Рис. 2 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gln223Arg гена LEPR и аллелей 223Gln и 223Arg у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия признаков НАСГ в биоптатах печени

Таблица 5 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП и здоровых лиц

Генотипы и аллели	НАЖБП (n=114)	Здоровые лица (n=72)	p
Генотипы FTO			
ТТ	0,57 (n=65)	0,79 (n=57)	0,021
ТА	0,21 (n=24)	0,15 (n=11)	0,4
АА	0,22 (n=25)	0,06 (n=4)	0,003
Аллели Т и А			
Т	0,68 (n=154)	0,87 (n=125)	0,0005
А	0,32 (n=74)	0,13 (n=19)	

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с НАЖБП и группой контроля.

У пациентов с НАЖБП чаще наблюдался генотип АА (rs9939609) FTO-гена, чем в контроле (табл. 5). Гомозиготный генотип ТТ, наоборот, чаще встречался у здоровых лиц. Доли гетерозиготного варианта гена FTO ТА в обеих группах практически не различались. Минорный аллель А соответственно чаще встречался в группе больных НАЖБП по сравнению со здоровыми. Доли генотипов не зависели от пола и возраста больных, но у пациентов с ожи-

рением 2-й и 3-й степени чаще наблюдали генотипы АА (0,34 vs 0,12; $p = 0,011$), аллель А (0,48 vs 0,2; $p = 0,00002$) и реже генотип ТТ (0,38 vs 0,72; $p = 0,0005$).

У больных с неблагоприятными генотипами FTO (ТА+АА) отмечалось более высокое содержание триглицеридов в крови, чем у лиц с генотипом ТТ. У пациентов, имевших сахарный диабет 2-го типа, реже встречался благоприятный генотип ТТ, а аллель А наблюдался чаще, чем у больных без СД – соответственно 0,36 vs 0,64 ($p = 0,016$) и 0,5 vs 0,27 ($p = 0,002$). При наличии генотипов FTO, содержащих минорный аллель А, содержание инсулина натощак и показатели НОМА-индекса были выше, чем у пациентов с генотипом ТТ. Активность цитолитических ферментов не зависела от ПЕН FTO rs9939609, также этот полиморфизм не влиял на возникновение холестаза. Генотип ТТ наблюдали реже, а аллель А чаще при наличии синдрома мезенхимального воспаления.

Таблица 6 – Распределение полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от данных гистологического исследования печени

Генотипы и аллели	Стеатоз 1-й ст. (n=14)	Стеатоз 2-й и 3-й ст. (n=23)	Фиброз F 1-2 (n=28)	Фиброз F 3 (n=9)
Генотипы FTO				
ТТ	0,71 (n=10)	0,35 (n=8)	0,54 (n=15)	0,33 (n=3)
ТА	0,21 (n=3)	0,3 (n=7)	0,25 (n=7)	0,33 (n=3)
АА	0,08 (n=1)	0,35 (n=8)	0,21 (n=6)	0,33 (n=3)
Аллели Т и А				
Т	0,82 (n=23)	0,5 (n=23)	0,55 (n=37)	0,66 (n=9)
А	0,18 (n=5)	0,5* (n=23)	0,45 (n=19)	0,34 (n=9)

Примечание: n – количество наблюдений, * – достоверность различий между пациентами сравниваемых групп, $p = 0,011$.

Известно, что полиморфизм гена FTO тесно связан с обменом липидов и их аккумуляцией в печени (Caruso V. et al., 2013; Kang H. et al., 2018). По данным УЗИ, минорный аллель А чаще наблюдали при выраженном стеатозе (2-й и 3-й степеней) – 0,39 vs 0,21 ($p = 0,012$), хотя частота встречаемости генотипов при различной степени стеатоза не различалась. Кроме того, аллель А чаще встречался у пациентов с тяжелым фиброзом 3-й и 4-й степеней сравнительно с F 1-2, определенным методом эластометрии – 0,43 vs 0,29 ($p = 0,03$).

По данным гистологического исследования биоптатов печени, различий в долях генотипов FTO выявлено не было, это могло объясняться малыми выборками внутри группы (табл. 6). Минорный неблагоприятный аллель А чаще встречался у пациентов с выраженным стеатозом. Не удалось выявить подобной зависимости относительно пациентов с НАЖБП и выраженным фиброзом F 3. Аллель А встречался в 2 раза чаще при НАСГ (19 чел.), чем при стеатозе – 0,5 vs 0,25 ($p = 0,048$), что демонстрирует важную роль гена FTO в повышенной аккумуляции липидов в ткани печени, связанной с ней липотоксичностью и воспалением.

ВЫВОДЫ

1. При неалкогольной жировой болезни печени, ассоциированной с ожирением, генотип Arg223Arg и аллель 223Arg встречаются реже, а аллель 223Gln гена LEPR – чаще, чем у здоровых, особенно в случаях ожирения 2-й и 3-й степеней. Повышение показателей лептина, индекса свободного лептина и снижение содержания sLep-R в крови не зависят от возраста больных. При генотипе Arg223Arg значения лептина и индекс свободного лептина ниже, чем у пациентов с наличием аллеля 223Gln. Содержание лептина и соотношение Lep/sLep-R выше у женщин и у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степеней. Концентрация лептина в крови прямо коррелирует с индексом массы тела и соотношением объем талии/объем бедер.

2. У больных неалкогольной жировой болезнью печени повышенные уровни ЛПНП и триглицеридов в крови ассоциированы с аллелем 223Gln и коррелируют с показателями лептина и соотношением Lep/sLep-R. Сочетание заболевания с сахарным диабетом, характеризуется повышенными величинами лептина, индекса свободного лептина, сниженными значениями sLep-R и более частой встречаемостью аллеля 223Gln. Установлена прямая корреляция содержания в крови лептина, соотношения Lep/sLep-R со значениями НОМА-индекса.

3. Цитолитический и холестатический синдромы не связаны с полиморфизмами гена LEPR, содержанием в крови лептина и его растворимого рецептора. Синдром мезенхимального воспаления у больных ассоциирован с генотипом Gln223Gln, аллелем 223Gln гена LEPR, а также с повышением лептина, соотношения Lep/sLep-R и снижением уровней растворимого рецептора лептина в крови.

4. Фиброз печени 1-й и 2-й стадий чаще встречается при генотипе Arg223Arg, а верифицированные ультрасонографически 3-я и 4-я стадии фиброза и 2-я и 3-я степени стеатоза печени чаще наблюдались у носителей аллеля 223Gln гена LEPR. Содержание лептина в крови и соотношение Lep/sLep-R были выше у пациентов с умеренным/выраженным стеатозом и с продвинутым фиброзом, а стадии фиброза 1 и 2 ассоциированы со сравнительно высокими уровнями sLep-R в крови.

5. Аллель 223Gln ассоциирован с гистологически верифицированным стеатозом 2-й и 3-й степеней и с неалкогольным стеатогепатитом. Уровни лептина в крови и индекс свободного лептина были выше, а содержание sLep-R – ниже при стеатозе 2-й и 3-й степеней, фиброзе 2-й и 3-й стадий, неалкогольном стеатогепатите по сравнению с минимальным стеатозом/фиброзом печени и отсутствием стеатогепатита.

6. У пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени генотип AA и аллель А гена FTO встречаются чаще, а генотип TT – реже, чем у здоровых, особенно в случаях ожирения 2-й и 3-й степеней. Увеличенные показатели триглицеридов, инсулина и НОМА-индекса связаны у больных с наличием аллеля А гена FTO. Сахарный диабет на фоне неалкогольной жировой болезни печени чаще ассоциирован с аллелем А и реже – с генотипом TT гена FTO.

7. Полиморфизм FTO rs9939609 не был связан с активностью цитолитических ферментов и частотой развития холестаза. Генотип TT наблюдался реже, а аллель А чаще при развитии синдрома мезенхимального воспаления. Неблагоприятный аллель А гена FTO был ассоциирован у больных с ультразвуковыми и гистологическими признаками стеатоза 2-й и 3-й степеней, с неалкогольным стеатогепатитом и чаще наблюдался при 3-й и 4-й стадиях фиброза, по данным эластометрии печени.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, следует изучать генотипы гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO, а также определять содержание в крови лептина и его растворимого рецептора для выделения групп риска тяжелого течения заболевания, характеризующегося прогрессированием фиброза и развитием неалкогольного стеатогепатита.

2. Прогностическими критериями наличия у больного фиброза 2-й и 3-й стадий и/или неалкогольного стеатогепатита следует считать значения лептина более 32,2 нг/мл, растворимого рецептора лептина менее 18,5 нг/мл и индекса свободного лептина более 2,9.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Впервые выполненное диссертационное исследование, посвященное комплексному изучению гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO, содержания в крови лептина и его растворимого рецептора у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, дает основу для прогнозирования неблагоприятных детерминант заболевания (прогрессирующего фиброза, неалкогольного стеатогепатита). Проведенное исследование не исчерпывает всей глубины проблемы мультифакторного патогенеза и генетической детерминантности неалкогольной жировой болезни печени. В комплекс изучения предрасположенности к тяжелому течению заболевания следует включать определение других адипокинов, а также изучение иных возможных полиморфизмов, например, изучение полиморфизмов гена адипонектина 45TT и 276GT, гена PNPLA3, генов TNF- α и TGF- β , эндотоксинового рецептора CD14, ангиотензина II типа 1 и ряда других.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ягода, А.В. Полиморфизм гена рецептора лептина и лептинорезистентность при неалкогольной жировой болезни печени, ассоциированной с ожирением / А.В. Ягода, Т.В. Гейвандова, С.Ш. Рогова, Н.И. Гейвандова // Эффективная фармакотерапия. – 2019. – Т. 15, № 18. – С. 82–87.

2. Ягода, А.В. Клиническое значение содержания в крови лептина у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением / А.В. Ягода, Т.В. Гейвандова, С.Ш. Рогова, Н.И. Гейвандова // Терапия. – 2019. – № 3 (29). – С.43–48.

3. **Гейвандова, Т.В. Ожирение, неалкогольная жировая болезнь печени и олигонуклеотидный полиморфизм гена FTO / Т.В. Гейвандова, С.Ш. Рогова // Терапия. – 2021. – № 7 (49). – С.44–49.**

4. Ягода, А.В. Полиморфизм гена FTO у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с метаболическим синдромом / А.В. Ягода, **Т.В. Гейвандова**, С.Ш. Рогова, Н.И. Гейвандова // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы Юбилейной XX Объединенной Росс. гастроэнтерологической недели. Приложение № 42 – 2014. – Т. XXIV, №5. Приложение № 44. – С. 66.

5. Ягода, А.В. Полиморфизм гена рецептора лептина у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением / А.В. Ягода, **Т.В. Гейвандова**, С.Ш. Рогова, Н.И. Гейвандова // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XXI Росс. конгресса «Гепатология сегодня». – 2016. – Т. XXVI, №1. – Приложение № 47. – С. 32.

6. Yagoda, A.V. Leptin receptor gene polymorphism in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with obesity / A.V. Yagoda, **T.V. Geyvandova**, S.Sh. Rogova, N.I. Geyvandova // Russian Journal of Gastroenterol., Hepatol., Coloproctol. – Application # 47. Abstracts XXI Russian Congress «Hepatology today». – 2016. – Vol. XXVI, N 1. – P. 88.

7. Ягода, А.В. Олигонуклеотидный полиморфизм гена FTO у больных неалкогольной жировой болезнью печени / А.В. Ягода, **Т.В. Гейвандова**, Н.И. Гейвандова, С.Ш. Рогова, С.А. Козакова // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XXII Росс. конгресса «Гепатология сегодня». – 2017. – Т. XXVII, №1. – Приложение № 49. – С. 35.

8. Yagoda, A.V. Oligonucleotide FTO gene polymorphism in patients with non-alcoholic fatty liver disease / A.V. Yagoda, **T.V. Geyvandova**, N.I. Geyvandova, S.Sh. Rogova, S.A. Kozakova // Russian Journal of Gastroenterol., Hepatol., Coloproctol. – Application # 49. Abstracts XXII Russian Congress «Hepatology today». – 2017. – Vol. XXVII, N1. – P. 89.

9. Гейвандова, Н.И. Содержание лептина в крови и нарушения пищевого поведения у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением / Н.И. Гейвандова, **Т.В. Гейвандова**, А.В. Ягода, С.Ш. Рогова, С.А. Козакова // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XXIII Росс. конгресса «Гепатология сегодня». – 2018. – Т. XXVIII, №2. – Приложение № 51. – С. 26.

10. Geyvandova, N.I. Level of leptin in blood and eating disorders in patients with non-alcoholic fatty liver disease associated with obesity / N.I. Geyvandova, **T.V. Geyvandova**, A.V. Yagoda, S.Sh. Rogova, S.A. Kozakova // Russian Journal of Gastroenterol., Hepatol., Coloproctol. – Application # 49. Abstracts XXIII Russian Congress «Hepatology today». – 2018. – Vol. XXVIII, N 2. – P. 72.

11. Гейвандова, Н.И. Растворимый рецептор лептина в крови больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением / Н.И. Гейвандова, **Т.В. Гейвандова**, А.В. Ягода, С.Ш. Рогова, С.А. Козакова // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XXIV Объединен-

ной Росс. гастроэнтерологической недели. 2018. – Т. 28, №5. Приложение № 52. – С. 49.

12. Гейвандова, Н.И. Растворимый рецептор лептина в крови больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением / Н.И. Гейвандова, **Т.В. Гейвандова**, А.В. Ягода, С.Ш. Рогова, С.А. Козакова // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XXIV ежегодного Росс. конгресса «Гепатология сегодня». – 2019, Т. 29, №2. – Приложение № 53. – С. 28.

13. **Гейвандова, Т.В.** Содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени в зависимости от нарушений обмена углеводов / **Т.В. Гейвандова** // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XXVII ежегодного Росс. конгресса «Гепатология сегодня». – 2023, №2, Т. 28. – Приложение № 61. – С. 16.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АлАТ – аланиновая аминотрансфераза

АсАТ – аспарагиновая аминотрансфераза

ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ИМТ – индекс массы тела

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

МВС – мезенхимально-воспалительный синдром

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени

НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

ОБ – объем бедер

ОТ – объем талии

ОШ – отношение шансов

ПЕН – полиморфизм единичного нуклеотида

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СД – сахарный диабет

ТГ – триглицериды

УДХК – урсодезоксихолевая кислота

УЗИ – ультразвуковое исследование

Хс – холестерин

ЩФ – щелочная фосфатаза

AUC – площадь под кривой

FTO – ген, ассоциированный с массой тела и ожирением

НОМА-IR – модель оценки гомеостаза для инсулинорезистентности

Lep – лептин

LEPR – ген рецептора лептина

Me – медиана

PNPLA3 – пататин-подобный фосфолипазный домен 3/адипонутрин

Q1-Q3 – интерквартильный размах

ROC – операционная характеристика приемника

rs – референсный сиквенс

sLep-R – растворимый рецептор лептина

TGF- β – трансформирующий фактор роста - β

TNF- α – фактор некроза опухоли- α