



Жирно-кислотный состав сыворотки крови и мембран эритроцитов у мужчин со стеатозом и стеатогепатитом с нормальной активностью трансаминаз

М.В. Кручинина^{1,2,✉}, М.Ф. Осипенко², А.А. Шестов³, М.В. Паруликова¹

¹ НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»

ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, г. Новосибирск, 630089, Россия

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Красный проспект, д. 52, г. Новосибирск, 630091, Россия

³ Медицинская школа Перельмана, университет Пенсильвании

3400 Civic Center Boulevard Building, Филадельфия, Пенсильвания, 19104, США

Аннотация

Цель исследования – изучить особенности профиля жирных кислот (ЖК) сыворотки крови и мембран эритроцитов у пациентов с двумя формами жировой болезни печени смешанного генеза (метаболическая и алкогольная): стеатозом и стеатогепатитом с нормальной активностью трансаминаз.

Материалы и методы. Обследованы 33 мужчины (50,7 ± 9,6 года) с жировой болезнью печени смешанного генеза (метаболическая и алкогольная) со степенью фиброза F ≤ 1 (FibroTest). По результатам ActiTest пациенты были разделены на группы стеатоза – с минимальной (A0–1) активностью (n = 17) и стеатогепатита – с умеренной/выраженной (A2–3) некровоспалительной активностью (n = 16). Исследование состава ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов проведено с помощью газовой хроматографии / масс-спектрометрии Agilent 7000B (Agilent Technologies, Inc., США). Применены методы непарной статистики с использованием volcano plot и дискриминантного анализа на основе ортогональных наименьших квадратов (Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis, OPLS-DA), ROC-анализ.

Результаты. Анализ volcano plot показал, что у пациентов с жировой болезнью печени смешанного генеза (метаболическая и алкогольная) с нормальной активностью трансаминаз в группе стеатогепатита сывороточные уровни стеариновой C18:0 (p = 0,016), арахидовой C20:0 (p = 0,023) кислот, соотношение насыщенные/полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) (p = 0,001) были статистически значимо выше, чем в группе стеатоза. Суммарное содержание в сыворотке крови всех ПНЖК (p = 0,003), маргариновой C17:0 (p = 0,011), суммы двух омега-3 ПНЖК – эйкозапентаеновой (C20:5n-3) и докозагексаеновой (C22:6n-3) (p = 0,04), суммарное содержание всех омега-3 ПНЖК (p = 0,042) были статистически значимо ниже в группе стеатогепатита. OPLS-DA продемонстрировал достаточно точное разделение стеатогепатита и стеатоза при использовании отдельных ЖК и их соотношений. При включении в анализ отдельных ЖК и их соотношений получена модель с AUC = 0,827 (95% доверительный интервал 0,499–1,0), чувствительностью 82,2% и специфичностью 80,7%.

Заключение. ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов представляются перспективными биомаркерами стеатогепатита при нормальном уровне трансаминаз.

Ключевые слова: жировая болезнь печени; метаболический и алкогольный генез; стеатогепатит; жирные кислоты; эритроциты; сыворотка крови

Рубрики MeSH:

ПЕЧЕНИ ЖИРОВАЯ ДИСТРОФИЯ – МЕТАБОЛИЗМ

ТРАНСАМИНАЗЫ – КРОВЬ

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ – КРОВЬ

ЭРИТРОЦИТА МЕМБРАНА

Для цитирования: Кручинина М.В., Осипенко М.Ф., Шестов А.А., Паруликова М.В. Жирно-кислотный состав сыворотки крови и мембран эритроцитов у мужчин со стеатозом и стеатогепатитом с нормальной активностью трансаминаз. Сеченовский вестник. 2024; 15(2): 48–60. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2024.15.2.48-60>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Кручинина Маргарита Витальевна, д-р мед. наук, доцент, заведующая и ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»; профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Адрес: ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, г. Новосибирск, 630089, Россия

E-mail: kruchmargo@yandex.ru

Соответствие принципам этики. Исследование проведено в соответствии с разрешением Локального этического комитета НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН» № 122-29.11.2016. Все пациенты, включенные в исследование, дали письменное информированное согласие на участие в работе.

Доступ к данным исследования. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Благодарности. Авторы выражают глубокую благодарность Соколовой А.С., канд. хим. наук, научному сотруднику лаборатории физиологически активных веществ ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН» за помощь в подготовке образцов для проведения исследования жирных кислот эритроцитов и Шашкову М.В., канд. хим. наук, научному сотруднику аналитической лаборатории ФГБУН «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения РАН» за исследование содержания жирных кислот.

Поступила: 12.04.2024

Принята: 13.05.2024

Дата печати: 15.07.2024

Fatty acid composition of blood serum and erythrocyte membranes in men with steatosis and steatohepatitis with normal transaminase activity

Margarita V. Kruchinina^{1,2,✉}, Marina F. Osipenko², Alexander A. Shestov³,
Marina V. Parulikova¹

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
175/1, Boris Bogatkov str., Novosibirsk, 630089, Russia

² Novosibirsk State Medical University

52, Krasny Prospekt, Novosibirsk, 630091, Russia

³ Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania
3400 Civic Center Boulevard Building, Philadelphia, PA 19104, USA

Abstract

Aim. To study the characteristics of the fatty acid (FA) profile of blood serum and erythrocyte membranes in patients with two forms of fatty liver disease (metabolic + alcoholic): steatosis and steatohepatitis with normal transaminase activity.

Materials and methods. We examined 33 men (50.7 ± 9.6 years) with fatty liver disease (metabolic and alcoholic) with fibrosis $F \leq 1$ (FibroTest). According to the ActiTest results, patients were divided into groups of steatosis – with minimal (A0–1) activity ($n = 17$) and steatohepatitis – with moderate/severe (A2–3) necroinflammatory activity ($n = 16$). The FA composition of blood serum and erythrocyte membranes was studied using gas chromatography/mass

spectrometry Agilent 7000B (Agilent Technologies, Inc., USA). Methods of unpaired statistics using volcano plot and discriminant analysis based on orthogonal least squares (Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis, OPLS-DA), ROC analysis were applied.

Results. Volcano plot analysis showed that in patients with fatty liver disease (metabolic and alcoholic) with normal transaminase activity, serum levels of stearic C18:0 ($p = 0.016$), arachidic C20:0 ($p = 0.023$), ratio saturated / polyunsaturated fatty acids (PUFA) ($p = 0.001$) were statistically significantly higher in the steatohepatitis group compared with the steatosis group. The total content in the blood serum of all PUFA ($p = 0.003$), margaric C17:0 ($p = 0.011$), the sum of two omega-3 PUFA – eicosapentaenoic acid (C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (C22:6n-3) ($p = 0.04$), the total content of all omega-3 PUFA ($p = 0.042$) were statistically significantly lower in patients with steatohepatitis. OPLS-DA demonstrated fairly accurate separation of steatohepatitis and steatosis using individual FA and their ratios. When individual FA and their ratios were included in the analysis, a model was obtained with AUC = 0.827 (95% confidence interval 0.499–1.0), sensitivity 82.2% and specificity 80.7%.

Conclusion. FA in blood serum and erythrocyte membranes appear to be promising biomarkers of steatohepatitis with normal levels of transaminases.

Keywords: fatty liver disease; metabolic and alcoholic genesis; steatohepatitis; fatty acids; red blood cells; blood serum

MeSH terms:

FATTY LIVER – METABOLISM

TRANSAMINASES – BLOOD

FATTY ACIDS – BLOOD

ERYTHROCYTE MEMBRANE

For citation: Kruchinina M.V., Osipenko M.F., Shestov A.A., Parulikova M.V. Fatty acid composition of blood serum and erythrocyte membranes in men with steatosis and steatohepatitis with normal transaminase activity. Sechenov Medical Journal. 2024; 15(2): 48–60. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2024.15.2.48-60>

CONTACT INFORMATION:

Margarita V. Kruchinina, Dr. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Head and Leading Researcher of the Gastroenterology Laboratory, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Novosibirsk State Medical University.

Address: Boris Bogatkov str., 175/1, Novosibirsk, 630089, Russia

E-mail: kruchmargo@yandex.ru

Ethics statements. The study was conducted in accordance with the permission of the Local Bioethics Ethical Committee of the Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, No. 122, of 29.11.2016. Written informed consent was obtained from all patients included in the study.

Data availability. The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

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

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

Acknowledgments. The authors express their deep gratitude to A.S. Sokolova, Cand. of Sci. (Chemistry), researcher at the Laboratory of Physiologically Active Substances of the Novosibirsk Institute of Organic Chemistry named after N.N. Vorozhtsov, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences for assistance in preparing samples for the study of erythrocyte fatty acids; M.V. Shashkov, Cand. of Sci. (Chemistry), researcher at the Analytical Laboratory of the Institute of Catalysis named after G.K. Boreskov, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences for the study of fatty acid content.

Received: 12.04.2024

Approved: 13.05.2024

Date of publication: 15.07.2024

Список сокращений:

AUC – площадь под ROC-кривой

АЛТ – аланиновая аминотрансфераза

АСТ – аспарагиновая аминотрансфераза

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза

ДИ – доверительный интервал

ЖБП – жировая болезнь печени

ЖК – жирные кислоты

ИМТ – индекс массы тела

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени

НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

НЖК – насыщенные жирные кислоты

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

СД2 – сахарный диабет 2-го типа

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является наиболее распространенным хроническим заболеванием печени во всем мире, от которого страдает 25–33% населения земного шара [1]. НАЖБП охватывает широкий гистологический спектр: от простого стеатоза, который часто имеет доброкачественное течение, до неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), характеризующегося повышенным риском прогрессирования, до цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [2]. НАСГ ассоциирован с высокой частотой сердечно-сосудистой смертности независимо от традиционных факторов риска [3], опасностью развития сахарного диабета 2-го типа (СД2) [4], с более высокой распространенностью и частотой формирования хронической болезни почек [5].

«Золотым стандартом» диагностики стеатогепатита, несмотря на множество недостатков, включая инвазивность, ошибки отбора проб, высокую стоимость, риск развития осложнений, различия в интерпретации гистологической картины, в настоящее время остается гистологическая оценка при проведении биопсии печени и обнаружение не только накопления липидов, но и баллонной дистрофии гепатоцитов и признаков лобулярного воспаления [6, 7].

Существующие методы визуализации, включая ультразвуковое исследование печени, компьютерную томографию, магнитно-резонансную томографию, определение САР-функции (Controlled Attenuation Parameter, параметр контролируемого затухания в ткани печени) при выполнении эластометрии печени, не позволяют четко дифференцировать стеатоз от стеатогепатита [2].

Широко используемая в рутинной практике активность аминотрансфераз как показатель воспаления имеет существенные ограничения: у 13–27% пациентов с НАСГ значения аланиновой аминотрансферазы (АЛТ) находятся в пределах референсных значений [8].

Для диагностики стеатогепатита также предложен ряд сывороточных тестов, основанных на измерении нескольких биохимических показателей: ActiTest в составе FibroTest, NashTest, AshTest в составе FibroMax [9]. Несмотря на то что эти тесты имеют ограничения по диагностической точности, в ряде исследований показана возможность использования, в частности, ActiTest для неинвазивного определения степени воспалительной активности при НАЖБП [10, 11].

В качестве биомаркеров жировой болезни печени (ЖБП) различного генеза нами предложено использовать жирные кислоты (ЖК) мембран эритроцитов и сыворотки крови. Так, модель, включавшая уровни элаидиновой (C18:1;t9), маргариновой (C17:0), стеариновой (C18:0), α -линоленовой (C18:3n-3), пальмитолеиновой (C16:1;9) и эйкозапентаеновой (C20:5n-3) кислот в мембранах эритроцитов, показала высокую диагностическую точность с площадью под ROC-кривой (AUC) 0,914 (95% доверительный интервал (95% ДИ) 0,602–0,976), для разделения пациентов с алкогольной и неалкогольной этиологией ЖБП [12]. Смешанный генез ЖБП (метаболический и алкогольный) по сравнению только с метаболическим или алкогольным был ассоциирован с большей степенью ненасыщенности ЖК мембран эритроцитов [12].

В представленной работе мы поставили цель: изучить особенности профиля ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов у пациентов с двумя формами ЖБП смешанного генеза (метаболическая и алкогольная): стеатозом и стеатогепатитом с нормальной активностью трансаминаз

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено одномоментное исследование со сплошным набором пациентов на базе гастроэнтерологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск» в период с 1 января по 31 декабря 2023 года. Учитывая вариабельность состава ЖК у женщин в зависимости от фазы гормонального цикла, в исследование включались только мужчины.

Критериями включения в исследование служили: возраст от 18 лет и старше; мужской пол; признаки ЖБП по данным ультразвукового исследования органов брюшной полости (диффузная гиперэхогенность паренхимы печени и неоднородность ее структуры, нечеткость и/или подчеркнутость сосудистого рисунка, дистальное затухание эхосигнала); индекс стеатоза печени FLI (Fatty liver index) > 60; степень фиброза печени F ≤ 1 по данным алгоритма FibroTest (BioPredictive, Франция); активность аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз (АЛТ и АСТ) < 40 Ед/л; наличие метаболического синдрома согласно Рекомендациям экспертов ВНОК¹, употребление алкоголя в дозах, опасных для здоровья (значение The

¹ Национальные рекомендации по диагностике и лечению метаболического синдрома. 2009. URL: http://www.scardio.ru/content/images/recommendation/nacionalnye_rekomendacii_po_diagnostike_i_lecheniyu_metabolicheskogo_sindroma.pdf (дата обращения: 13.01.2024).

Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) ≥ 8); воздержание от приема алкоголя в течение ≥ 7 дней до включения в исследование; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: наличие дополнительной этиологии заболевания печени (вирусы гепатитов, лекарства, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный холангит, первичный склерозирующий холангит, болезнь Вильсона, гемохроматоз); парентеральное питание; сахарный диабет 1-го типа; доказанные генетические причины стеатоза печени; желчнокаменная болезнь или билиарный сладж; прием биологически активных добавок, содержащих омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), статинов; общий холестерин сыворотки ≥ 8 ммоль/л, холестерин липопротеинов низкой плотности ≥ 5 ммоль/л; наличие тяжелой сопутствующей соматической патологии, злокачественных опухолей.

Исходно оценено 56 мужчин с ЖБП смешанного генеза (метаболическая и алкогольная). Критерии исключения имели 23 пациента. В исследование включены 33 мужчины ($50,7 \pm 9,6$ года). Поточная диаграмма включения пациентов представлена на рисунке 1.

Степень некровоспалительной активности в печени определена с помощью расчетного алгоритма ActiTest в составе FibroTest (BioPredictive, Франция). По результатам этого теста пациенты были разделены на группы стеатоза – с минимальной (A0–1) активностью по ActiTest ($n = 17$) и стеатогепатита – с умеренной/выраженной (A2–3) некровоспалительной активностью ($n = 16$).

В группах оценивались: возраст, окружность талии, индекс массы тела (ИМТ), наличие избыточной массы тела / ожирения, СД2/предиабета (нарушенная гликемия натощак, нарушенная толерантность к глюкозе), артериальной гипертензии, прием сахароснижающих и антигипертензивных препаратов, паттерн потребления алкоголя (частота, разовая и недельная дозы, характер напитков, стаж), биохимические параметры: общий белок, альбумин, АЛТ, АСТ, гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), щелочная фосфатаза, общий и прямой билирубин, липидный профиль (общий холестерин, холестерин липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицериды), креатинин, мочевая кислота, концентрация гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов.

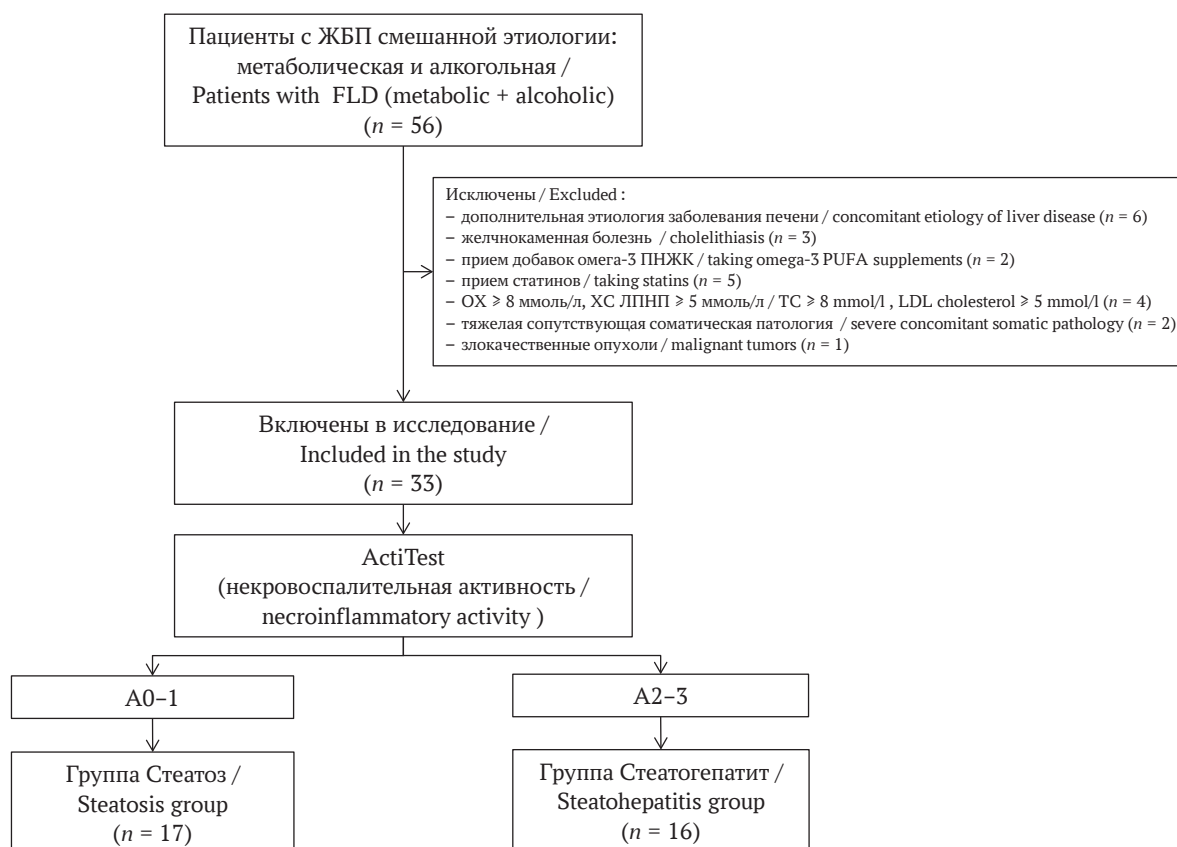


РИС. 1. Поточная диаграмма включения пациентов в исследование.

Примечание: ЖБП – жировая болезнь печени; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; ОХ – общий холестерин; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности.

FIG. 1. Flow diagram of patient enrollment in the study.

Note: FLD – fatty liver disease; PUFA – polyunsaturated fatty acids; TC – total cholesterol; LDL cholesterol – low-density lipoprotein cholesterol.

Исследование состава жирных кислот

Состав ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов изучен с помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии с использованием системы на основе трех квадруполов Agilent 7000B (Agilent Technologies, Inc., США). Концентрации ЖК выражали в относительных процентах. Предел обнаружения ЖК составил ~ 1 мкг на образец.

В мембранах эритроцитов и сыворотке крови произведено определение 18 жирных кислот, относящихся к разным классам: насыщенные жирные кислоты (НЖК) (C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C20:0), мононенасыщенные (C16:1;7, C16:1;9, C18:1;9, C18:1;7), полиненасыщенные, в том числе омега-3 ПНЖК (C18:3n-3, C20:5n-3, C22:5n-3, C22:6n-3) и омега-6 ПНЖК (C20:2n-6, C20:3n-6, C20:4n-6, C22:4n-6), их суммарных содержаний, а также их соотношений: НЖК/ненасыщенные ЖК, НЖК/ПНЖК, омега-6/омега-3 ПНЖК.

Статистический анализ

При выполнении статистической обработки данных определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартное отклонение (standard deviation, SD) ($M \pm SD$). При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался t -тест Стьюдента. В случае распределения, отличного от нормального, вычислялись медиана (Me) и интерквартильный размах (25-й; 75-й процентиля), при сравнении групп использовались непараметрические критерии (U -критерий Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса). Оценка статистической значимости различий относительных показателей проведена с помощью критерия хи-квадрат Пирсона.

Проведен корреляционный анализ и рассчитаны коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена для оценки связи между концентрацией ЖК и ИМТ, ожирением, паттерном употребления алкоголя, уровнем АЛТ, АСТ, билирубина. Для оценки силы связи применена шкала Чеддока: при значениях коэффициентов 0–0,3 связь оценена как очень слабая; 0,3–0,5 – слабая; 0,5–0,7 – средняя; 0,7–0,9 – высокая; 0,9–1 – очень высокая.

Для определения потенциальных биомаркеров стеатогепатита проведена процедура нормализации концентрации ЖК по медиане с последующим применением методов непарной статистики с использованием volcano plot и дискриминантного анализа на основе ортогональных наименьших квадратов (Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis, OPLS-DA).

Оценка диагностической точности произведена с помощью ROC-анализа. Рассчитана чувствительность, специфичность и AUC. Качество модели оценивалось как отличное при значениях AUC – 0,9–1,0;

очень хорошее – 0,8–0,9; хорошее – 0,7–0,8; среднее – 0,6–0,7; неудовлетворительное – менее 0,5.

Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05. Для статистической обработки использовалось программное обеспечение MATLAB R2019a (MathWorks, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика групп

Клинико-биохимические показатели пациентов исследуемых групп представлены в таблице 1.

Пациенты со стеатозом и стеатогепатитом были сопоставимы по возрасту, все обследованные имели избыточную массу тела или абдоминальное ожирение. Вместе с тем в группе со стеатогепатитом оказалась большей доля лиц с СД2 и предиабетом ($p < 0,05$) и более высокими уровнями гликемии натощак ($p < 0,05$).

Показатели липидного профиля, пуринового обмена не различались между группами. Большая часть пациентов обеих групп принимала гипотензивные препараты (сартаны, блокаторы кальциевых каналов, бета-блокаторы), гипогликемические средства (метформин), без значимых различий между группами.

Паттерн приема алкоголя: частота, характер алкогольных напитков, разовая доза и стаж не различались между группами со стеатозом и стеатогепатитом. Половина пациентов ($n = 8$) в группе стеатогепатита и 7 (41%) в группе стеатоза употребляли алкоголь два и более раз в неделю. Больше половины пациентов – 10 (59%) в группе стеатоза и 11 (69%) в группе стеатогепатита принимали крепкие алкогольные напитки. Недельная доза потребляемого алкоголя в группе стеатогепатита оказалась в два раза выше, чем в группе стеатоза, – 240 г vs. 120 г ($p < 0,05$).

Группы статистически значимо не различались по параметрам общего анализа крови, индексу стеатоза печени FLI (Fatty liver index). Показатели общего белка, альбумина, билирубина, креатинина находились в пределах референсных значений без различий между группами. Активности АЛТ и ГГТ в группе со стеатогепатитом оказались статистически значимо выше, чем у пациентов со стеатозом ($p = 0,037$, $p < 0,0001$ соответственно), причем для АЛТ эти различия выявлены внутри референсных значений, активность же ГГТ в группе стеатогепатита превышала референсные значения в 1,5 раза. Показатели АСТ и ЩФ не отличались между группами и находились в пределах референсных значений.

Жирные кислоты сыворотки крови и мембран эритроцитов

После нормализации концентрации жирных кислот по медиане использован метод volcano plot, который объединил результаты анализа кратных изменений и T -тестов в один график и позволил выбрать ЖК

Таблица 1. Общая характеристика пациентов со стеатозом и стеатогепатитом
Table 1. General characteristics of the patients with steatosis and steatohepatitis

Показатели / Indicators	Стеатоз / Steatosis (n = 17)	Стеатогепатит / Steatohepatitis (n = 16)	Значение p / p value
Возраст, лет / Age, years	48,47 ± 9,4	54,8 ± 8,9	n.s.
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	28,7 (26,8; 32,3)	28,7 (26,3; 33,1)	n.s.
Окружность талии, см / Waist circumference, cm	116,2 (111; 123)	117,7 (112; 124)	n.s.
Избыточная масса тела, n (%) / Overweight, n (%)	9 (53%)	7 (44%)	n.s.
Ожирение, n (%) / Obesity, n (%)	8 (47%)	9 (56%)	n.s.
СД2 и НГН / НГТ / T2DM and IFG / IGT, n (%)	6 (35%)	12 (75%)	<0,05
Метформин, n (%) / Metformin, n (%)	3 (18%)	4 (25%)	n.s.
Артериальная гипертензия, n (%) / Arterial hypertension, n (%)	16 (94%)	16 (100%)	n.s.
Гипотензивная терапия, n (%) / Antihypertensive therapy, n (%)	10 (59%)	10 (63%)	n.s.
Паттерн потребления алкоголя / Alcohol consumption patterns			
≥2 раз в неделю, n (%) / ≥2 times a week, n (%)	7 (41%)	8 (50%)	n.s.
крепкие напитки / strong alcoholic drinks	10 (59%)	11 (69%)	n.s.
разовая доза, г чистого этанола / single dose, g of pure ethanol	75 (50; 120)	100 (65; 165)	n.s.
недельная доза, г чистого этанола / weekly dose, g of pure ethanol	120 (50; 180)	240 (140; 440)	<0,05
стаж, лет / alcohol consumption experience, years	12 (8; 20)	13,5 (11; 16)	n.s.
Эритроциты, ×10 ¹² /л / Red blood cells, ×10 ¹² /l	5,2 (4,8; 5,4)	4,8 (4,52; 5,3)	n.s.
Гемоглобин, г/л / Hemoglobin, g/l	157 (147,5; 165,5)	153 (138,2; 162,4)	n.s.
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л / White blood cells, ×10 ⁹ /l	6,8 (5,6; 7,85)	7,7 (6,5; 8,2)	n.s.
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л / Platelets, ×10 ⁹ /l	231 (175,5; 245)	221 (196; 253,5)	n.s.
Общий белок, г/л / Total protein, g/l	69 (66; 72)	69 (69; 70,7)	n.s.
Альбумин, г/л / Albumin, g/l	43 (42; 45)	43 (42; 43)	n.s.
АЛТ, Ед/л / ALT, U/l	19,5 (15; 31,7)	28 (21,5; 34)	<0,05
АСТ, Ед/л / AST, U/l	19,5 (14; 21)	23 (20; 35)	n.s.
ГГТ, Ед/л (референсные значения 11–50 Ед/л) / GGT, U/l (Reference range (11–50 U/l))	22 (19; 27,7)	77 (56; 83,5)	<0,001
Щелочная фосфатаза, Ед/л (референсные значения 60–275 Ед/л) / Alkaline phosphatase, U/l (Reference range (60–275 U/l))	155 (134; 177)	149 (71,3; 185)	n.s.
Общий билирубин, мкмоль/л / Total bilirubin, μmol/l	10 (7,2; 11,9)	13,4 (11,8; 17,8)	n.s.
Прямой билирубин, мкмоль/л / Direct bilirubin, μmol/l	3,5 (2,3; 4,2)	2,2 (1,8; 3,7)	n.s.
Глюкоза венозной крови натощак, ммоль/л / Fasting venous blood glucose, mmol/l	6,3 (5,4; 6,5)	6,9 (6,2; 10,5)	<0,05
Общий холестерин, ммоль/л / Total cholesterol, mmol/l	6,1 (4,6; 7,11)	5,1 (4,2; 6,1)	n.s.
Триглицериды, ммоль/л / Triglycerides, mmol/l	1,4 (1,3; 2,8)	1,9 (1,0; 2,9)	n.s.
ХС ЛПВП, ммоль/л / HDL cholesterol, mmol/l	1,1 (1,0; 1,15)	1,07 (0,83; 1,2)	n.s.
ХС ЛПНП, ммоль/л / LDL cholesterol, mmol/l	4,1 (3,3; 5,6)	3,6 (2,5; 5,1)	n.s.
Креатинин, мкмоль/л / Creatinine, μmol/l	83 (76; 87)	80 (75,3; 90)	n.s.
Мочевая кислота, мг/дл / Uric acid, mg/dl	356 (351; 412)	353 (317; 407)	n.s.
Индекс стеатоза печени / Fatty liver index	79,3 ± 8,3	88,5 ± 13,6	n.s.

Примечание: n.s. – not significant, не значимо; ИМТ – индекс массы тела; СД2 – сахарный диабет 2-го типа; НГН – нарушенная гликемия натощак, НГТ – нарушенная толерантность к глюкозе; АЛТ – аланиновая аминотрансфераза; АСТ – аспарагиновая аминотрансфераза; ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности.

Note: n.s. – not significant; BMI – body mass index; T2DM – type 2 diabetes mellitus; IFG – Impaired fasting glucose, IGT – impaired glucose tolerance; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; GGT – gamma-glutamyltransferase; HDL cholesterol – high density lipoprotein cholesterol; LDL cholesterol – low-density lipoprotein cholesterol.

и их соотношения с наиболее значимыми различиями между группами пациентов со стеатогепатитом и стеатозом. Результаты представлены в таблице 2.

Группа стеатогепатита статистически значимо отличалась от группы стеатоза более высокой сывороточной концентрацией как отдельных ЖК:

стеариновой (C18:0), арахидовой (C20:0), так и соотношением НЖК/ПНЖК. Одновременно с этим в группе стеатогепатита сывороточная концентрация маргариновой ЖК (C17:0), суммарное содержание ПНЖК, сумма двух n-3 ПНЖК (C20:5n-3 + C22:6n-3), всех n-3 ПНЖК были статистически значимо ниже, чем

Таблица 2. Результаты volcano plot анализа жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов и их соотношений
Table 2. Results of volcano plot analysis of fatty acids of blood serum and erythrocyte membranes and their ratios

Жирные кислоты / Fatty acids	Кратность изменений / Frequency of changes	log2	Значения p / p value	-log10(p)
Сывороточные / Serum				
НЖК/ПНЖК / SFA/PUFA	1,879	1,582	0,001	2,838
ПНЖК / PUFA	1,766	-1,365	0,003	2,537
Стеариновая (C18:0) / Stearic (C18:0)	1,586	0,665	0,016	1,785
Маргариновая (C17:0) / Margaric (C17:0)	1,473	-0,596	0,011	1,736
Арахидовая (C20:0) / Arachidic (C20:0)	1,509	0,587	0,023	1,631
омега-3 ПНЖК (C20:5n-3+C22:6n-3) / n-3 PUFA (C20:5n-3+C22:6n-3)	0,635	-0,622	0,040	1,394
омега-3 ПНЖК / n-3 PUFA	0,655	-0,611	0,042	1,375
Эйкозапентаеновая (C20:5n-3) / Eicosapentaenoic (C20:5n-3)	0,423	-1,240	0,051	1,288
Пальмитолеиновая (C16:1;9) / Palmitoleic (C16:1;9)	0,666	-0,587	0,058	1,244
Эритроцитарные / Red blood cells				
Эйкозапентаеновая (C20:5n-3) / Eicosapentaenoic (C20:5n-3)	0,624	-0,681	0,051	1,297

Примечание: НЖК – насыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты.
 Note: SFA – saturated fatty acids; PUFA – polyunsaturated fatty acids.

в группе стеатоза. Сывороточная концентрация пальмитолеиновой (C16:1;9) и эйкозапентаеновой кислот (C20:5n-3) и концентрация эйкозапентаеновой кислоты (C20:5n-3) в мембранах эритроцитов оказались ниже при стеатогепатите по сравнению со стеатозом, значимость различий близка к принятому уровню.

Проведение дискриминантного анализа OPLS-DA продемонстрировало достаточно точное разделение стеатогепатита и стеатоза при использовании вышеописанных биомаркеров (рис. 2).

ROC-анализ, построенный на исход «стеатогепатит», показал хорошее качество модели для суммарного содержания ПНЖК сыворотки крови: AUC 0,785 (95% ДИ 0,634–0,918), чувствительность 62,5%, специфичность 88,9%; для стеариновой кислоты (C18:0) сыворотки: AUC 0,788 (95% ДИ 0,634–0,92), чувствительность 75%, специфичность 72,2%; для арахидовой кислоты (C20:0) сыворотки: AUC 0,753 (95% ДИ 0,567–0,895), чувствительность 75%, специфичность 77,8%. Для суммарного содержания двух омега-3 ПНЖК в сыворотке – C20:5n-3 и C22:6n-3 получена модель среднего качества: AUC 0,694 (95% ДИ 0,516–0,866), чувствительность 62,5%, специфичность 66,7% (рис. 3).

При создании диагностической панели с включением в ее состав содержания совокупности ЖК и их соотношений получена модель очень хорошего качества: площадь под кривой увеличилась до 0,827 (95% ДИ 0,499–1,0); чувствительность составила 82,2%, специфичность – 80,7% (рис. 3).

Установлена слабая корреляция активности АЛТ с суммарным количеством НЖК сыворотки ($r = 0,466$, $p = 0,011$), с соотношением НЖК/ПНЖК ($r = 0,472$, $p = 0,01$); активности АСТ – с сывороточным уровнем маргариновой ЖК (C17:0) – $r = -0,334$, $p = 0,048$; активности ГГТ – с уровнем стеариновой ЖК (C18:0) в сыворотке крови – $r = 0,386$, $p = 0,038$,

с суммарным содержанием сывороточных НЖК – $r = 0,450$, $p = 0,010$, с соотношением НЖК/ПНЖК – $r = 0,391$, $p = 0,036$. Выявлены слабые обратные ассоциации между концентрацией общего и прямого билирубина и содержанием эйкозапентаеновой ЖК (C20:5n-3) в сыворотке крови – $r = -0,329$, $p = 0,041$ и $r = -0,391$, $p = 0,037$ соответственно.

Выявлены слабые прямые корреляции суммы сывороточных НЖК с ИМТ ($r = 0,447$, $p = 0,015$), наличием СД2 ($r = 0,437$, $p = 0,018$). Прямая слабая корреляция установлена между наличием СД2 и сывороточным уровнем арахидовой кислоты (C20:0). Уровень пальмитолеиновой ЖК (C16:1;9) прямо коррелировал с концентрацией общего холестерина ($r = 0,417$, $p = 0,025$), триглицеридов ($r = 0,617$, $p = 0,0001$). Соотношение НЖК/ПНЖК также оказалось прямо связанным с уровнем глюкозы крови натощак ($r = 0,437$, $p = 0,018$), с большей силой связи – с уровнем триглицеридов ($r = 0,652$, $p = 0,0001$). Напротив, с суммарным содержанием ПНЖК связи показателей метаболических нарушений были обратными: для ИМТ – $r = -0,454$, $p = 0,013$, для СД 2 – $r = -0,443$, $p = 0,018$, для уровня триглицеридов – $r = -0,723$, $p = 0,0001$.

Среди НЖК сывороточная маргариновая (C17:0) слабо обратно коррелировала с разовой дозой потребляемого алкоголя ($r = -0,422$, $p = 0,023$). Выявлена слабая ассоциация сывороточного содержания пальмитолеиновой кислоты (C16:1;9) с частотой потребления алкоголя ($r = 0,371$, $p = 0,048$). Наблюдалась слабая обратная корреляция суммарных концентраций сывороточных омега-3 ПНЖК с недельной дозой потребляемого этанола ($r = -0,369$, $p = 0,049$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании проанализированы особенности профиля ЖК сыворотки крови

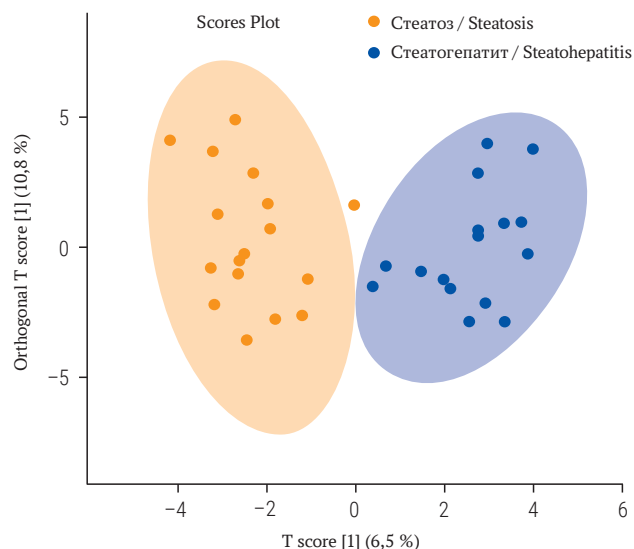


РИС. 2. Дискриминантный анализ OPLS-DA, проведенный на основе концентраций жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов.

Примечание: OPLS-DA – Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis, дискриминантный анализ на основе ортогональных наименьших квадратов.

Оранжевое облако, оранжевые точки – содержание жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов в группе пациентов со стеатозом; синее облако, синие точки – в группе пациентов со стеатогепатитом. По оси абсцисс отображен прогнозирующий компонент, по оси ординат – ортогональный компонент. В скобках указан процент дисперсии ответа, ассоциированный только с компонентом-предиктором (T1 = 6,5% по горизонтали и T1 = 10,8% по вертикали).

FIG. 2. Discriminant analysis OPLS-DA based on fatty acid concentrations in serum and erythrocyte membranes.

Note: OPLS-DA – Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis.

Orange cloud, orange dots – fatty acid concentrations in serum and erythrocyte membranes in the group of patients with steatosis; blue cloud, blue dots – in the group of steatohepatitis. The predictive component is displayed along the abscissa axis, and the orthogonal component is displayed along the ordinate axis. The percentage of response variance associated only with the predictor component is indicated in parentheses (T1 = 6.5% horizontally and T1 = 10.8% vertically).

и мембран эритроцитов у мужчин с ЖБП смешанного генеза (метаболическая и алкогольная) с разной степенью некротовоспалительной активности. Данные литературы свидетельствуют о наличии ассоциации между содержанием ЖК в сыворотке крови и степенью фиброза печени [13], поэтому в настоящее исследование включены пациенты с $F \leq 1$. Пациенты были разделены на группы, отличающиеся по некротовоспалительной активности – стеатоз и стеатогепатит, с использованием ActiTest в составе FibroTest. Мы понимаем условность подобного разделения, поскольку согласно рекомендациям Европейского общества по изучению заболеваний печени лишь биопсия печени является основанием для установления стеатогепатита [7]. Однако наличие исследований,

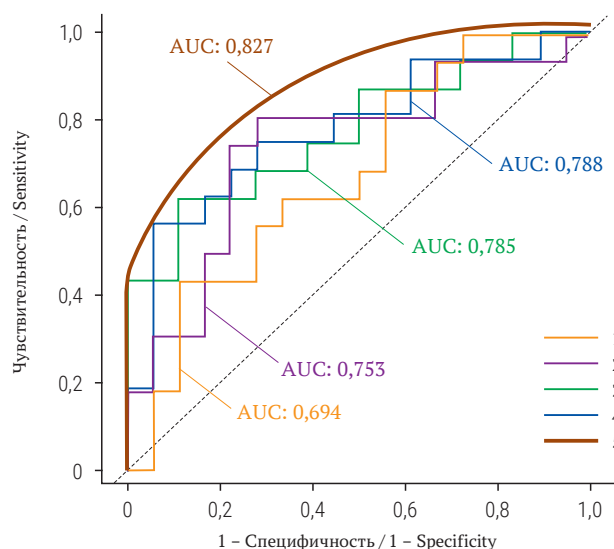


РИС. 3. ROC-кривые, построенные на исход «стеатогепатит».

1. Суммарное содержание омега-3 ПНЖК сыворотки (C20:5n-3 + C22:6n-3).
2. Арахидовая кислота (C20:0) сыворотки.
3. Суммарное содержание ПНЖК сыворотки.
4. Стеариновая кислота (C18:0) сыворотки.
5. Совокупность жирных кислот сыворотки НЖК/ПНЖК, ПНЖК, стеариновой (C18:0), маргариновой (C17:0), арахидовой (C20:0), омега-3 ПНЖК (C20:5n-3 + C22:6n-3), омега-3 ПНЖК, C16:1;9, C20:5n-3 и C20:5n-3 в мембранах эритроцитов.

Примечание: НЖК – насыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты.

FIG. 3. ROC curves plotted for the outcome “steatohepatitis”.

1. Total content of omega-3 PUFA in serum (C20:5n-3 + C22:6n-3).
2. Arachidic acid (C20:0) of serum.
3. Total serum PUFA content.
4. Stearic acid (C18:0) of serum.
5. The totality of serum fatty acids SFA/PUFA, PUFA, stearic (C18:0), margaric (C17:0), arachidic (C20:0), omega-3 PUFA (C20:5n-3 + C22:6n-3), omega-3 PUFA, C16:1;9, C20:5n-3 and C20:5n-3 in erythrocyte membranes.

Note: SFA – saturated fatty acids; PUFA – polyunsaturated fatty acids.

подтверждающих возможность установления некротовоспалительной активности при НАЖБП с использованием ActiTest [10, 11], позволило применить данный сыровоточный тест в настоящей работе.

Хорошо известно, что продолжающееся потребление алкоголя оказывает существенное влияние на результаты сыровоточных и визуализирующих методов определения степени фиброза, некротовоспалительной активности [9, 14], что послужило основанием для включения в наше исследование пациентов в состоянии абстиненции. Оно ассоциировано со снижением активности АЛТ, АСТ. Вместе с этим по данным литературы известно, что часть пациентов со стеатогепатитом имеет устойчивый

уровень активности трансаминаз в пределах референсных значений. Так, Х. Ма и соавт. [15] в мета-анализе 11 исследований с участием 4084 пациентов установили, что среди больных с НАСГ доля пациентов с нормальным значением АЛТ составляет 19%. По данным Н.С. Услусой и соавт. [8] такие пациенты составили 30,4% от всех обследованных с гистологически подтвержденным НАСГ. Изучение этой группы пациентов имеет большое значение как для понимания механизмов патогенеза заболевания, так и для оценки его клинического профиля. В литературе нам не удалось найти работ, в которых изучался бы профиль ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов у пациентов со стеатогепатитом и нормальным уровнем трансаминаз.

В нашем исследовании пациенты со стеатогепатитом имели более высокие уровни глюкозы натощак (вследствие большей доли лиц с СД2 и предиабетом), большую активность ГГТ, АЛТ, причем последняя находилась в пределах референсных значений. Пациенты данной группы в течение более чем 10 лет систематически потребляли алкоголь (более половины – крепкие алкогольные напитки) в дозах, опасных для здоровья.

Изучение корреляций уровней ЖК с активностью трансаминаз определило как сам факт их наличия, так и силу и направленность имеющихся связей. По данным W. Yoo и соавт. [13] установлены обратные корреляции между уровнями сывороточных пентадекановой (C15:0) и маргариновой (C17:0) кислот и активностью АСТ, АЛТ и прямыми между активностью АСТ и содержанием C16:1n-7c. В нашей работе статистически значимыми оказались слабые прямые корреляции между суммарным содержанием НЖК, соотношением НЖК/ПНЖК в сыворотке крови и активностью АЛТ. Полученные результаты по обратной слабой корреляции между активностью АСТ и уровнем маргариновой (C17:0) кислоты в мембранах эритроцитов согласуются с результатами W. Yoo и соавт. [13] по данной ЖК в сыворотке крови.

Постепенное использование современных методов статистической обработки – дискриминантного анализа, метода volcano plot, ROC-анализа позволило выделить конкретные ЖК и их соотношения для достаточно точной дифференциальной диагностики стеатоза и стеатогепатита.

Измененный липидный профиль при НАЖБП позволяет предположить, что изменения концентрации и качества липидов в клеточных мембранах могут повлиять на патогенез и прогрессирование стеатоза или стеатогепатита [16, 17].

Специфические ЖК являются важными медиаторами печеночной липотоксичности, которые активируют лизосомально- и митохондриально-зависимые пути апоптоза, а также стресс эндоплазматического ретикулаума [18, 19]. Некоторые ЖК не оказывают токсического воздействия на печень. Добавление

мононенасыщенной олеиновой кислоты в эксперименте приводило к безопасному накоплению триглицеридов в клетках печени, в отличие от насыщенной пальмитиновой кислоты [20]. Н.В. Деерак и соавт. [21] получили аналогичные результаты, применяя сочетание олеиновой и пальмитиновой кислот.

При анализе профиля ЖК наиболее значимые различия получены для НЖК (как суммарного, так и отдельных ЖК), концентрация которых была выше в группе стеатогепатита при снижении мононенасыщенной пальмитолеиновой C16:1;9 и ПНЖК, что, вероятно, патогенетически значимо. Эти результаты согласуются с данными М. Notarnicola и соавт. [22], которые показали, что повышенное соотношение НЖК/ПНЖК в мембранах эритроцитов может быть маркером повреждения печени. Эти же авторы продемонстрировали, что изменение соотношения стеариновой и олеиновой ЖК в мембранах эритроцитов (C18:0/C18:1;c9) ассоциировано со степенью повреждения печени в связи с измененной регуляцией процессов десатурации и элонгации ЖК, что значимо в патогенезе ЖБП [22].

Вместе с тем имеются данные о протективной роли ряда насыщенных ЖК. Так, показано, что и пентадекановая (C15:0), и маргариновая (C17:0) кислоты обратно ассоциированы с риском развития СД2 и сердечно-сосудистых заболеваний [23]. Более того, в экспериментах на мышах W. Yoo и соавт. [13] показали, что уровни пентадекановой (C15:0), маргариновой (C17:0) и пальмитилаидиновой (C16:1n-7t) кислот в сыворотке крови отрицательно коррелируют с баллонной дистрофией гепатоцитов, которая является гистологическим признаком стеатогепатита и ассоциирована с прогрессированием заболевания. По мнению R. Mayo и соавт., уровень маргариновой кислоты (C17:0) в сыворотке крови оказался самым точным маркером, позволяющим разделять простой стеатоз от стеатогепатита [24].

Сниженные уровни пальмитолеиновой кислоты (C16:1;9) сыворотки крови у пациентов со стеатогепатитом по данным настоящей работы могут быть обусловлены ее расходом в связи с высокой активностью *stearoyl-CoA desaturase-1* (SCD1) и в липогенезе *de novo* [25]. В экспериментах на мышах R. Guo и соавт. [26] показали, что обогащение диеты мононенасыщенными ЖК значительно усугубляло вызванную алкоголем дисфункцию печени. Авторы показали низкое содержание пальмитолеиновой кислоты (C16:1;9) в мембранах эритроцитов пациентов с тяжелой НАЖБП и предположили, что это связано с высокой активностью элонгазы 5 (Elovl5), приводящей к более высокой скорости превращения пальмитолеиновой (C16:1;9) в вакценовую кислоту (C18:1n-7c), которая ассоциирована с некровоспалительной активностью в ткани печени и степенью фиброза у пациентов с ЖБП по данным Yoo W и соавт. [13].

Исследование В. Amirkalali и соавт. обнаружило прямую связь между суммарным содержанием мононенасыщенных ЖК и уровнем провоспалительного интерлейкина 6 в сыворотке крови, который может индуцировать печеночную инсулинорезистентность [27].

Анализируя роль омега-3 ПНЖК в группах со стеатогепатитом и стеатозом печени, следует подчеркнуть ряд важных молекулярных механизмов их эффектов. Омега-3 ПНЖК, особенно эйкозапентаеновая кислота (C20:5n-3) и докозагексаеновая кислота (C22:6n-3), регулируя факторы транскрипции генов (т.е. PPAR α , PPAR γ , SREBP-1, ChREBP), могут контролировать ключевые пути, участвующие в метаболизме липидов в печени. Так, омега-3 ПНЖК являются мощными активаторами рецептора PPAR α , который усиливает регуляцию нескольких генов, участвующих в стимуляции окисления жирных кислот, и понижает регуляцию провоспалительных генов таких цитокинов, как фактор некроза опухоли- α и интерлейкин 6. Омега-3 ПНЖК активируют рецептор PPAR γ , что приводит к усилению окисления жиров и повышению чувствительности к инсулину [28].

Хотя результаты исследований, касающихся роли n-3 ПНЖК при алкогольной болезни печени, противоречивы, появляется все больше свидетельств того, что эти кислоты могут быть полезны для снижения выраженности алкогольного стеатоза и вызванного алкоголем повреждения печени посредством снижения липогенеза *de novo* и мобилизации липидов из жировой ткани, усиления β -окисления жирных кислот в митохондриях, уменьшения воспаления печени и окислительного стресса [29].

По данным настоящего исследования, сниженные уровни ПНЖК в сыворотке крови, преимущественно омега-3, были значимы для построения модели диагностики стеатогепатита ЖБП смешанного генеза, для эйкозапентаеновой кислоты (C20:5n-3) подобное снижение отмечено и в мембранах эритроцитов. Эти результаты согласуются с данными S. Kartsoli и соавт. [16]. Омега-3 ПНЖК могут ингибировать арахидоновый каскад конкурентно антагонизирующими ферментами (дельта 6- и дельта-5-десатуразы, циклооксигеназы и липоксигеназы), тем самым обеспечивая противовоспалительные эффекты, ингибируя синтез воспалительных медиаторов арахидоновой кислоты и тромбоксана A₂ [29].

Результаты исследования Y. Zhou и соавт. [30] показали снижение уровней эйкозапентаеновой (C20:5n-3) и докозагексаеновой (C22:6n-3) кислот

в ткани печени пациентов с НАЖБП. W. Yoo и соавт. [13] выявили снижение циркулирующих уровней другой n-3 ПНЖК, докозапентаеновой (22:5n-f3), у пациентов с НАСГ с различной степенью фиброза печени. V. Nobili [31] было показано, что докозагексаеновая кислота у детей с ЖБП может модулировать активацию клеток – предшественников печени, выживаемость гепатоцитов и поляризацию макрофагов посредством взаимодействия с GPR120 и подавления NF- κ B, что существенно снижает степень воспаления в печени. По данным M.H. Spooner и соавт. [32] и E. Scorletti и соавт. [33], добавление n-3 ПНЖК может уменьшить жировые отложения в печени без снижения степени фиброза печени

M. Wang и соавт. [34] показали влияние n-3 ПНЖК на снижение некровоспалительных нарушений при алкогольном стеатозе печени в экспериментальных моделях посредством механизма ингибирования этанол-индуцированного липолиза жировой ткани через ось PDE3B-AMPK.

Настоящее исследование имеет ряд ограничений: небольшой объем выборки, включение в исследование только лиц мужского пола, использование ActiTest для разделения пациентов на группы с различной некровоспалительной активностью. Однако полученные результаты следует считать перспективными для будущих исследований по использованию ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов в качестве неинвазивных маркеров стеатогепатита, в том числе на больших группах больных с ЖБП, у пациентов с разной биохимической активностью, степенью фиброза печени, некровоспалительной активностью, подтвержденной гистологически.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наличие стеатогепатита по сравнению со стеатозом (на основании данных ActiTest) у пациентов с ЖБП смешанного генеза (метаболическая и алкогольная) с нормальной активностью трансаминаз ассоциировано с более высокими уровнями сывороточных стеариновой (C18:0), арахидоновой (C20:0) кислот, соотношения НЖК/ПНЖК и более низкими – ПНЖК, маргариновой (C17:0), суммарного содержания эйкозапентаеновой (C20:5n-3) и докозагексаеновой (C22:6n-3), суммы всех омега-3 ПНЖК в сыворотке крови, а также эритроцитарными и сывороточными уровнями эйкозапентаеновой (C20:5n-3) кислоты. Модель, включающая уровни данных жирных кислот, обеспечила AUC 0,827, чувствительность 82,2%, специфичность 80,7% в различении стеатогепатита и стеатоза печени.

ВКЛАД АВТОРОВ

М.В. Кручинина и М.Ф. Осипенко разработали концепцию и дизайн исследования. М.В. Кручинина и М.В. Паруликова проводили сбор, анализ и интерпретацию данных. М.В. Кручинина и А.А. Шестов выполняли статистическую обработку данных. Все авторы принимали участие в составлении текста рукописи. М.В. Кручинина и М.Ф. Осипенко осуществляли критическую доработку рукописи. Все авторы утвердили окончательную версию статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Quek J., Chan K.E., Wong Z.Y., et al.* Global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in the overweight and obese population: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2023; 8(1): 20–30. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(22\)00317-X](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(22)00317-X). Epub 2022 Nov 16. PMID: 36400097
2. *Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E., et al.* The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018; 67(1): 328–357. <https://doi.org/10.1002/hep.29367>. Epub 2017 Sep 29. PMID: 28714183
3. *Polyzos S.A., Chrysavgis L., Vachliotis I.D., et al.* Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: Insights in epidemiology, pathogenesis, imaging, prevention and therapy. *Semin Cancer Biol.* 2023 Aug; 93: 20–35. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2023.04.010>. Epub 2023 May 4. PMID: 37149203
4. *Le M.H., Le D.M., Baez T.C., et al.* Global incidence of adverse clinical events in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Clin Mol Hepatol.* 2024 Apr; 30(2): 235–246. <https://doi.org/10.3350/cmh.2023.0485>. Epub 2024 Jan 26. PMID: 38281814; PMCID: PMC11016479
5. *Mantovani A., Petracca G., Beatrice G., et al.* Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident chronic kidney disease: an updated meta-analysis. *Gut.* 2022 Jan; 71(1): 156–162. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323082>. Epub 2020 Dec 10. PMID: 33303564
6. *Sumida Y., Nakajima A., Itoh Y.* Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol.* 2014 Jan 14; 20(2): 475–485. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i2.475>. PMID: 24574716; PMCID: PMC3923022
7. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu; Clinical Practice Guideline Panel; Chair; EASL Governing Board representative; Panel members. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. *J Hepatol.* 2021 Sep; 75(3): 659–689. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.05.025>. Epub 2021 Jun 21. PMID: 34166721
8. *Uslusoy H.S., Nak S.G., Gülsen M., Biyikli Z.* Non-alcoholic steatohepatitis with normal aminotransferase values. *World J Gastroenterol.* 2009 Apr 21; 15(15): 1863–1868. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.1863>. PMID: 19370784; PMCID: PMC2670414
9. *Chen Z., Ma Y., Cai J., et al.* Serum biomarkers for liver fibrosis. *Clin Chim Acta.* 2022 Dec 1; 537: 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.09.022>. Epub 2022 Sep 27. PMID: 36174721
10. *Munteanu M., Tiniakos D., Anstee Q., et al.* Diagnostic performance of FibroTest, SteatoTest and ActiTest in patients with NAFLD using the SAF score as histological reference. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016 Oct; 44(8): 877–889. <https://doi.org/10.1111/apt.13770>. Epub 2016 Aug 23. PMID: 27549244; PMCID: PMC5113673
11. *Ciećko-Michalska I., Szczepanek M., Wierzbicka-Tutka I., et al.* Non-invasive diagnosis of steatosis, inflammatory changes and

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Margarita V. Kruchinina and Marina F. Osipenko developed the concept and design of the study. Margarita V. Kruchinina and Marina V. Parulikova collected, analyzed and interpreted the data. Margarita V. Kruchinina and Alexander A. Shestov performed statistical analysis. All authors took part in drafting the manuscript. Margarita V. Kruchinina and Marina F. Osipenko carried out critical revision of the manuscript. All authors approved the final version of this manuscript.

- liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver diseases. Pilot study. *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2018 Dec 28; 3: e179–e183. <https://doi.org/10.5114/amsad.2018.81184>. PMID: 30775610; PMCID: PMC6374567
12. *Кручинина М.В., Осипенко М.Ф., Паруликова М.В., Кручинина Э.В.* Жирные кислоты мембран эритроцитов в дифференцировании пациентов с жировой болезнью печени алкогольного, неалкогольного и смешанного генеза. Эффективная фармакотерапия. 2023; 19 (43): 28–41. <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2023-19-43-28-41>. EDN: CQDSQR / *Kruchinina M.V., Osipenko M.F., Parulikova M.V., Kruchinina E.V.* Fatty acids of erythrocyte membranes in the differentiation of patients with fatty liver disease of alcoholic, non-alcoholic and mixed genesis. *Effective Pharmacotherapy.* 2023; 19 (43): 28–41. <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2023-19-43-28-41>. EDN: CQDSQR
13. *Yoo W., Gjuka D., Stevenson H.L., et al.* Fatty acids in non-alcoholic steatohepatitis: Focus on pentadecanoic acid. *PLoS One.* 2017 Dec 15; 12(12): e0189965. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189965>. PMID: 29244873; PMCID: PMC5731750
14. *Shan R., Yin H., Yang W., et al.* Influencing factors of transient elastography in detecting liver stiffness. *Exp Ther Med.* 2016 Oct; 12(4): 2302–2306. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3617>. Epub 2016 Aug 24. Erratum in: *Exp Ther Med.* 2018 Dec; 16(6): 5425. PMID: 27698728; PMCID: PMC5038607
15. *Ma X., Liu S., Zhang J., et al.* Proportion of NAFLD patients with normal ALT value in overall NAFLD patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2020 Jan 14; 20(1): 10. <https://doi.org/10.1186/s12876-020-1165-z>. PMID: 31937252; PMCID: PMC6961232
16. *Kartsoli S., Kostara C.E., Tsimihodimos V., et al.* Lipidomics in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol.* 2020 Aug 27; 12(8): 436–450. <https://doi.org/10.4254/wjh.v12.i8.436>. PMID: 32952872; PMCID: PMC7475773
17. *Béland-Bonenfant S., Rouland A., Petit J.M., Vergès B.* Concise review of lipidomics in nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab.* 2023 May; 49(3): 101432. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2023.101432>. Epub 2023 Feb 11. PMID: 36781065
18. *Eo H., Valentine R.J.* Saturated fatty acid-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance are prevented by Imoxin in C2C12 myotubes. *Front Physiol.* 2022 Jul 22; 13: 842819. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.842819>. PMID: 35936891; PMCID: PMC9355746
19. *Wu X., Zhang L., Gurley E., et al.* Prevention of free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity by 18beta-glycyrrhetic acid through lysosomal and mitochondrial pathways. *Hepatology.* 2008 Jun; 47(6): 1905–1915. <https://doi.org/10.1002/hep.22239>. PMID: 18452148
20. *Flessa C.M., Nasiri-Ansari N., Kyrrou I., et al.* Genetic and diet-induced animal models for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) research. *Int J Mol Sci.* 2022 Dec 13; 23(24): 15791. <https://doi.org/10.3390/ijms232415791>. PMID: 36555433; PMCID: PMC9780957

21. Deepak H.B., Shreekrishna N., Sameermahmood Z., et al. An in vitro model of hepatic steatosis using lipid loaded induced pluripotent stem cell derived hepatocyte like cells. *J Biol Methods*. 2020 Jul 22; 7(3): e135. <https://doi.org/10.14440/jbm.2020.330>. PMID: 32934967; PMCID: PMC7483829
22. Notarnicola M., Caruso M.G., Tutino V., et al. Significant decrease of saturation index in erythrocytes membrane from subjects with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids Health Dis*. 2017 Aug 23; 16(1): 160. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0552-0>. PMID: 28830448; PMCID: PMC5568099
23. Jenkins B., West J.A., Koulman A. A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic Acid (c15:0) and heptadecanoic Acid (c17:0) in health and disease. *Molecules*. 2015 Jan 30; 20(2): 2425–2444. <https://doi.org/10.3390/molecules20022425>. PMID: 25647578; PMCID: PMC6272531
24. Mayo R., Crespo J., Martínez-Arranz I., et al. Metabolomic-based noninvasive serum test to diagnose nonalcoholic steatohepatitis: Results from discovery and validation cohorts. *Hepatol Commun*. 2018 May 4; 2(7): 807–820. <https://doi.org/10.1002/hep4.1188>. PMID: 30027139; PMCID: PMC6049064
25. Lee J.J., Lambert J.E., Hovhannisyann Y., et al. Palmitoleic acid is elevated in fatty liver disease and reflects hepatic lipogenesis. *Am J Clin Nutr*. 2015 Jan; 101(1): 34–43. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.092262>. Epub 2014 Nov 19. PMID: 25527748; PMCID: PMC4266891
26. Guo R., Chen L., Zhu J., et al. Monounsaturated fatty acid-enriched olive oil exacerbates chronic alcohol-induced hepatic steatosis and liver injury in C57BL/6J mice. *Food Funct*. 2023 Feb 6; 14(3): 1573–1583. <https://doi.org/10.1039/D2FO03323B>. PMID: 36655918
27. Amirkalali B., Sohrabi M.R., Esrafiy A., et al. Erythrocyte membrane fatty acid profile & serum cytokine levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Indian J Med Res*. 2018 Apr; 147(4): 352–360. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1065_16. PMID: 29998870; PMCID: PMC6057244
28. Spooner M.H., Jump D.B. Omega-3 fatty acids and nonalcoholic fatty liver disease in adults and children: where do we stand? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2019 Mar; 22(2): 103–110. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000539>. PMID: 30601174; PMCID: PMC6355343
29. Wang M., Ma L.J., Yang Y., et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids for the management of alcoholic liver disease: A critical review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019; 59(sup1): S116–S129. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1544542>. Epub 2018 Dec 22. PMID: 30580553
30. Zhou Y., Orešić M., Leivonen M., et al. Noninvasive detection of nonalcoholic steatohepatitis using clinical markers and circulating levels of lipids and metabolites. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016 Oct; 14(10): 1463–1472.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.05.046>. Epub 2016 Jun 16. PMID: 27317851
31. Nobili V., Carpino G., Alisi A., et al. Role of docosahexaenoic acid treatment in improving liver histology in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *PloS one*. 2014 Feb 4; 9(2): e88005. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088005>. PMID: 24505350; PMCID: PMC3913708
32. Spooner M.H., Jump D.B. Nonalcoholic fatty liver disease and Omega-3 fatty acids: mechanisms and clinical use. *Annu Rev Nutr*. 2023 Aug 21; 43: 199–223. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-061021-030223>. Epub 2023 May 19. PMID: 37207355
33. Scorletti E., Bhatia L., McCormick K.G., et al. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in nonalcoholic fatty liver disease: results from the Welcome* study. *Hepatology*. 2014 Oct; 60(4): 1211–1221. <https://doi.org/10.1002/hep.27289>. PMID: 25043514
34. Wang M., Zhang X., Ma L.J., et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorate ethanol-induced adipose hyperlipolysis: A mechanism for hepatoprotective effect against alcoholic liver disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017 Dec; 1863(12): 3190–3201. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.08.026>. Epub 2017 Aug 25. PMID: 28847514

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кручинина Маргарита Витальевна , д-р мед. наук, доцент, заведующая и ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии, НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0077-3823>

Осипенко Марина Федоровна, д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5156-2842>

Шестов Александр Александрович, канд. хим. наук, доцент Медицинской школы Перельмана Университета Пенсильвании, Филадельфия, Пенсильвания, США.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7214-5057>

Паруликова Марина Владимировна, преподаватель отдела образования и врач-гастроэнтеролог НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8305-4091>

 Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Margarita V. Kruchinina , Dr. of Sci. (Medicine), Associate Professor, Head and Leading Researcher of the Gastroenterology Laboratory, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Novosibirsk State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0077-3823>

Marina F. Osipenko, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Novosibirsk State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5156-2842>

Alexander A. Shestov, Cand. of Sci. (Chemistry), Associate Professor, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, USA.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7214-5057>

Marina V. Parulikova, Lecturer of the Department of Education and gastroenterologist, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences.
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8305-4091>