

На правах рукописи

Тихомирова Анна Сергеевна

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ
ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ
С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

МОСКВА – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор

Никитин Игорь Геннадиевич

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Ардатская Мария Дмитриевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, кафедра гастроэнтерологии, профессор кафедры

Доктор медицинских наук, профессор

Павлов Чавдар Савович

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра терапии Института профессионального образования, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2021 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.072.01 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться на сайте <http://rsmu.ru> и в научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор



Духанин Александр Сергеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) в последние годы стала значимой проблемой современной гастроэнтерологии и гепатологии, в первую очередь из-за ее высокой частоты встречаемости. Согласно данным крупного мета-анализа с включением 85 исследований распространенность НАЖБП в мире составляет в среднем 25% (Younossi, Z.M., 2016). В 2015 году были опубликованы результаты эпидемиологического исследования, по результатам которого было выявлено, что частота встречаемости заболевания в Российской Федерации находится на уровне 37%, что на 10% больше чем в 2007 году (Драпкина О.М., 2014, Ивашкин В.Т., 2015).

У большинства пациентов НАЖБП протекает бессимптомно, однако у некоторых больных отмечается прогрессирующее течение заболевания с развитием фиброза, а в последующем и цирроза печени (ЦП). В целом, к факторам риска более агрессивного течения НАЖБП относят наличие воспалительных изменений по данным биопсии, сахарный диабет (СД) 2 типа, ожирение и полиморфизм гена пататин-подобного фосфолипазного домена 3 (PNPLA3) rs738409 (Adams L.A. et al., 2005, Nasr P. et al., 2017, Sookoian S. et al. 2011). Но важно отметить, что в ряде исследований связь СД 2 типа и ожирения с прогрессированием заболевания выявить не удалось (Yu Y. et al., 2018, Argo C.K. et al., 2009). Так в мета-анализе с включением 10 исследований было показано, что только возраст и наличие признаков воспаления по данным биопсии были независимыми предикторами прогрессирования фиброза печени (Argo C.K. et al., 2009). Кроме того, имеются сведения, что ЦП данной этиологии может развиваться и у лиц с нормальной массой тела (Yu Y. et al., 2018). Еще одним из факторов являются генетические особенности. Роль полиморфизма гена PNPLA3 rs738409 в прогрессировании НАЖБП было доказано во множестве зарубежных исследований (Shen J.H. et al., 2015, Valenti L. Et al., Vespasiani-Gentilucci U. et al., 2016). Также ряд исследователей отмечают разную распространенность данной мутации среди этнических групп с максимальным выявлением у латиноамериканцев и минимальным у афроамериканцев (Romeo S et al., 2008). Однако в Российской Федерации влияние полиморфизма гена PNPLA3 rs738409 на течение НАЖБП изучено не достаточно, имеются только единичные исследования. Так, первое исследование, в котором оценивалась ассоциация прогрессирования НАЖБП и наличием мутации в гене, было проведено в 2018 году в Омске (Кролевец Т.С. и др., 2018). Как сообщают авторы, только у носителей генотипа CG был диагностирован фиброз 3 стадии, а у лиц со 2 стадией фиброза данный генотип наблюдался в 70% случаев. Но следует отметить, что в

исследование не были включены пациенты с ЦП, а также носителей генотипа GG в данной когорте не было. Второе исследование было проведено в Санкт-Петербурге в 2019 году (Райхельсон и др., 2019). Авторы продемонстрировали, что у носителей генотипа GG отмечались более выраженный стеатоз печени и более высокий уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ). Однако связи между наличием полиморфизма гена PNPLA3 rs738409 и выраженностью фиброза получено не было. Между тем выявление факторов риска прогрессирования НАЖБП позволит выделить группу лиц с потенциально более агрессивным течением заболевания для более пристального наблюдения за данной категорией больных, что побудило нас к проведению данного исследования.

Цель исследования

Выявление клинических, лабораторных и генетических маркеров прогноза высокого риска развития ЦП у пациентов с НАЖБП и риска формирования НАЖБП в московской популяции.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать НАЖБП с позиции общей длительности заболевания, пола, возраста и коморбидного фона пациентов.
2. Изучить особенности течения вариантов НАЖБП на доцирротической и цирротической стадиях.
3. Изучить возможные клинические и лабораторные маркеры прогрессирования НАЖБП и тяжести ее течения, оценить их прогностическую значимость.
4. Изучить частоту встречаемости вариативных аллелей гена PNPLA3 у пациентов с НАЖБП на доцирротической и цирротической стадиях, а также в группе здоровых добровольцев на примере московской популяции и оценить влияние вариативных аллелей гена PNPLA3 на прогрессирование НАЖБП и тяжесть ее течения.
5. Изучить частоту встречаемости полиморфизма гена фактора роста фибробластов (FGF) 21 rs383133 у пациентов с НАЖБП на доцирротической и цирротической стадиях, а также в группе здоровых добровольцев на примере московской популяции.

Научная новизна

В текущем исследовании были изучены клинические особенности пациентов с ЦП в исходе НАЖБП, проведен сравнительный анализ сопутствующей патологии у пациентов с НАЖБП на нецирротической и цирротической стадиях. Продемонстрировано влияние длительности заболевания на развитие фиброза печени у пациентов с НАЖБП и ее

циррозогенный потенциал. Впервые на московской популяции была оценена частота выявления полиморфизмов гена PNPLA3 rs738409 и гена FGF21 rs383133 у пациентов с НАЖБП на нецирротической и цирротической стадии, а также их влияние на развитие ЦП у пациентов данной категории.

Практическая значимость

Для предварительной оценки степени фиброза печени у пациентов с НАЖБП предпочтительно использовать NAFLD fibrosis score (NFS). В случае положительного и неопределенного результата NAFLD fibrosis score показано проведение ультразвуковой эластометрии печени и морфологического исследования биоптата печени при необходимости. Полиморфизм гена FGF21 rs838133 целесообразно выявлять для прогнозирования риска развития НАЖБП в популяции. С целью оценки риска развития ЦП у пациентов с НАЖБП необходимо определять у них наличие полиморфизма гена PNPLA3 rs738409, особенно в случаях наличия выраженного МС и высокой лабораторной активности заболевания.

Внедрение в практику

Результаты научного исследования Тихомировой А.С. внедрены в практическую работу поликлинического отделения ФГАУ «Национального медицинского исследовательского центра «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России, в практическую работу терапевтического отделения №1 ГБУЗ Городской клинической больницы им. В.М. Буянова Департамента здравоохранения г. Москвы, в практическую работу терапевтического отделения №1 ФГБУ Центральной клинической больницы Российской академии наук.

Положения, выносимые на защиту

1. Пациентов, страдающих выраженным ожирением, необходимо относить к группе лиц повышенного риска развития ЦП в исходе НАЖБП.
2. NAFLD fibrosis score (NFS) обладает умеренной точностью и может быть использована для неинвазивной диагностики выраженного фиброза печени у пациентов с НАЖБП, в то время как использование индекса отношения аспартатаминотрансферазы к количеству тромбоцитов (APRI) и индекса фиброза-4 (FIB4) не рекомендовано.
3. Полиморфизм гена PNPLA3 rs738409 является независимым фактором повышенного риска развития ЦП у пациентов с НАЖБП.

4. Полиморфизм гена FGF21 rs838133 ассоциирован с более высокой частотой развития НАЖБП в популяции в связи, с чем его определение может быть дополнительным критерием прогнозирования риска развития НАЖБП.

Апробация

Результаты диссертационного исследования были представлены на Международной научно-практической конференции «Наука сегодня: глобальные вызовы и механизмы развития» (Вологда, 2019); на III Терапевтическом форуме "Мультидисциплинарный больной", III Всероссийской конференции молодых терапевтов (Москва, 2019), на Международном симпозиуме «Diabetes mellitus from science to clinical practice» (Москва, 2019), на XXIV Объединенной Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2018), на XXIV Международном конгрессе "Гепатология сегодня" (Москва, 2019).

Апробация диссертации прошла на совместном заседании кафедры госпитальной терапии № 2 лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России и сотрудников ГКБ им. В.М. Буянова ДЗМ.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ в центральной печати и сборниках научных конференций, из них 3 – в рецензируемых журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией для публикаций результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственного исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованной литературы, включающего 27 отечественных и 204 зарубежных источников, а также 2 приложений. Диссертационная работа иллюстрирована 14 таблицами, 9 рисунками, 4 клиническими примерами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Данное исследование представляет собой ретроспективный анализ течения заболевания, результатов диагностики пациентов с ЦП в исходе НАЖБП, а также проспективный анализ данных полученных с помощью генетического обследования и двумерной сдвиговолновой эластометрии печени. В исследовании принимали участие 101 пациент в возрасте от 19 до 84

лет. Медиана возраста составила 55 (28 – 65) лет. Все пациенты были разделены на 3 группы: группа I (основная группа) - 30 пациентов с ЦП в исходе НАЖБП, группа II (группа сравнения) - 46 пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии, группа III (группа контроля) – 25 здоровых добровольцев.

Критериями включения пациентов группы I и II в исследование были: мужчины и женщины старше 18 лет; индекс массы тела (ИМТ) больше 25 кг/м^2 , подписанное информированное согласие на участие в исследовании пациента с юридически подтвержденной дееспособностью; клинические, лабораторные, иммунологические и инструментальные критерии НАЖБП на стадии сформированного ЦП (I группа) и на нецирротической стадии (II группа). **Критерии исключения** для групп I и II относились все выявляемые клинические, лабораторные, иммунологические и инструментальные признаки поражения печени иной, нежели НАЖБП, этиологии (аутоиммунные, вирусные, алкогольное, лекарственное, наследственные заболевания печени, а также СД 1 типа). **Критериями включения** участников группы III были: мужчины и женщины старше 18 лет; подписанное информированное согласие, ИМТ менее 25 кг/м^2 . **Критериями исключения** участников группы III являлись те же, что для группы I и II, а также наличие НАЖБП, СД 2 типа и метаболического синдрома (МС).

Для пациентов групп I и II из предоставленной медицинской документации была взята следующая информация: результаты клинического (уровень количество тромбоцитов, лейкоцитов, эритроцитов, средний объем эритроцита, гемоглобин) и биохимического исследования крови (уровни аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), γ -глутамилтранспептидазы (γ -ГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего холестерина, триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), альбумина, общего и прямого билирубина, глюкозы, креатинина, расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по СКД-ЕРІ, натрия, коагулограммы (международного нормализованного отношения (МНО), протромбин по Квику), данные ультразвукового исследования (УЗИ) органов брюшной полости, эзофагогастроуденоскопии (ЭГДС), результаты гистологического исследования биоптата печени (при наличии).

ЦП был установлен на основании типичных клинических признаков, данных лабораторного обследования, результатов УЗИ органов брюшной полости и ЭГДС. Дополнительно пациентам групп I и II с целью определения степени фиброза была проведена двумерная сдвиговолновая эластометрия на аппарате Aixplorer MultiWave (SuperSonic Imagine, Франция). Исследование не проводилось 2 пациентам группы I из-за выраженного ожирения и 2 пациентам группы I из-за

наличия напряженного асцита. Для оценки тяжести заболевания были использованы шкалы Child-Turcotte-Pugh, MELD (Model for End Stage Liver Disease). Степень выраженности печеночной энцефалопатии оценивалась по классификации West Haven. Результаты гистологического исследования печени были известны у 7 пациентов группы I: по данным предоставленной медицинской документации у 2 пациентов была проведена биопсия печени, 5 пациентов умерли в ходе исследования от основного заболевания, получены результаты аутопсий печени.

НАЖБП устанавливалась по данным УЗИ органов брюшной полости. Использовались также данные лабораторного обследования пациентов: активность биохимических маркеров цитолиза и холестаза.

У всех пациентов групп I и II были рассчитаны следующие индексы неинвазивной оценки фиброза: индекс отношения APRI, FIB-4, NFS. Для расчета использовались соответствующие онлайн калькуляторы.

Анализ полиморфизма гена PNPLA3 rs738409 был произведен с помощью ПЦР, ПДРФ-анализа (метод полиморфизма длин рестриционных фрагментов) ПЦР-продуктов с использованием амплификатора "Терцик" (ДНК-Технология, Россия) и эндонуклеаз рестрикции BstF5 I (СибЭнзим, Россия). Анализ полиморфизма гена FGF21 rs383133 был выполнен методом ПЦР в режиме реального времени с использованием детектирующего амплификатора ДТ прайм (ДНК-Технология, Россия) и набора мастер-микс QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen, Германия).

Статистическая обработка данных производилась с помощью программного обеспечения «STATISTICA 10» (StatSoft, 2010). Для описания количественных данных были использованы медиана (Me) и интерквартильный размах (IQR). С целью оценки различий между количественными данными – U-критерий Манна-Уитни, H-критерий Краскела-Уоллиса. Выявление связи оценивалось с использованием критериев корреляции Фишера, χ^2 Пирсона, χ^2 Пирсона с поправкой Йетса, также рассчитывался относительный риск с 95% доверительным интервалом. Статистически значимыми результаты признавались при $p < 0,05$.

Результаты собственного исследования

В группу I (основная группа) было включено 8 мужчин и 22 женщины. Медиана возраста больных составила 64,0 (55-68) года. Наиболее часто ЦП был диагностирован в возрастной группе 61-70 лет, что согласуется с эпидемиологическими данными по России. Медиана

эластичности печени составила 18,95 (15,1-25,1) кПа. Согласно полученным данным, у половины пациентов наблюдался ЦП класса А по Child-Turcotte-Pugh, реже класс В и наиболее редко класс С.

Достоверно установить длительность НАЖБП не удалось у данной группы пациентов, поскольку только у 4 пациентов по данным предоставленной медицинской документации имелись признаки хронического гепатита ранее: у 2 пациентов впервые было выявлено заболевание печени за 7 лет до постановки диагноза ЦП, у 1 пациента за 3 года до выявления ЦП и у одного пациента за 5 лет.

В группу II было включено 34 женщины и 12 мужчин. Медина возраста пациентов составила 58,5 (51–65) лет. Согласно полученным данным, у 10 участников группы фиброз печени отсутствовал, у 8 участников был выявлен фиброз печени на стадии F1, у 17 участников был выявлен фиброз печени на стадии F2, у 11 участников F3. В таблице 1 представлены средние сроки с момента установления диагноза НАЖБП и степень фиброза печени у пациентов группы II.

Таблица 1 – Средние сроки с момента установления диагноза НАЖБП и степень фиброза печени у пациентов группы II

Степень фиброза	Средние сроки установленного диагноза НАЖБП по данным медицинской документации (лет)
F0 (n=10)	3,2 (2,36-4,04)
F1 (n=8)	3,1 (2,35-3,85)
F2 (n=17)	6,8 (5,6-7,9) *
F3 (n=10)	8,9 (7,6-10,2) *

* $p < 0,05$ при сравнении подгрупп пациентов F2 и F3 с подгруппами F0 и F1 соответственно

Как следует из данных, представленных в таблице, значительную роль в развитии ЦП (темпов прогрессирования фиброза) играет временной фактор – длительность заболевания НАЖБП была достоверно выше у пациентов с F2 и F3 степенями фиброза по сравнению с пациентами с F0 и F1 степенями фиброза.

На рисунке 1 представлена сравнительная характеристика клинической картины пациентов группы I и группы II.

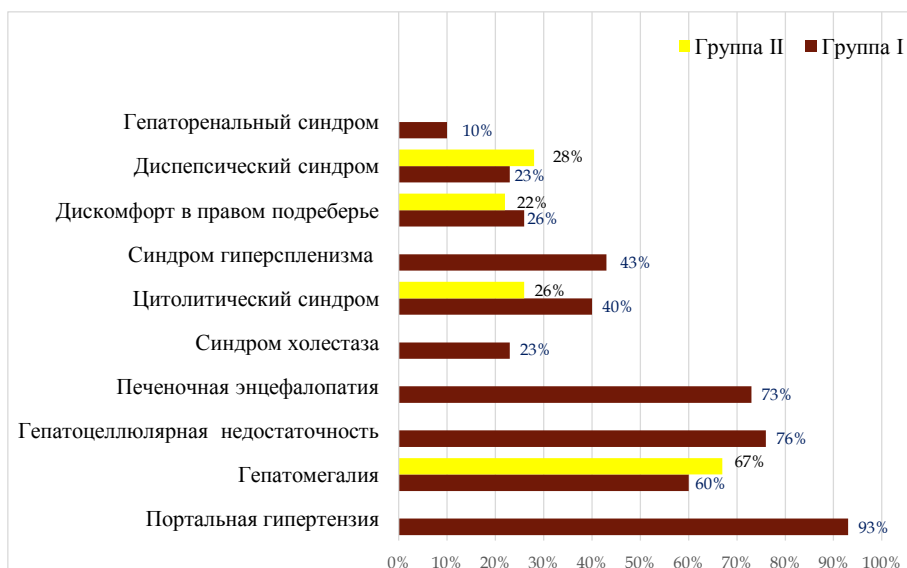


Рисунок 1 – Сравнительная характеристика пациентов групп I и II

Как видно из представленных данных на гистограмме, в более чем половине случаев у пациентов группы I наблюдалась гепатомегалия, синдромы портальной гипертензии, печеночно-клеточной недостаточности, печеночной энцефалопатии и астеновегетативный синдром. У пациентов группы II наблюдалась более скудная симптоматика. Наиболее часто отмечалась гепатомегалия, протекающая бессимптомно более чем в половине случаев. Кроме того, у пациентов группы II наблюдались астеновегетативный и цитолитический синдромы, но реже, чем у пациентов группы I.

При оценке распространенности ожирения среди пациентов групп I и II обращает на себя внимание, что у пациентов в группе I наиболее часто встречалось ожирение 3 степени, в то время как среди пациентов группы II избыточная масса тела (рисунок 2). С целью оценки ожирения, как возможного фактора прогрессирования НАЖБП и развития ЦП был проведен статистический анализ связи ожирения и ЦП, по результатам, которого было выявлено, что существует статистически достоверная корреляция между ожирением и наличием ЦП ($\chi^2=9,811$; $p=0,021$) у наблюдаемых нами пациентов. Таким образом, ожирение является независимым фактором прогрессирования НАЖБП и формирования ЦП у данной категории больных.

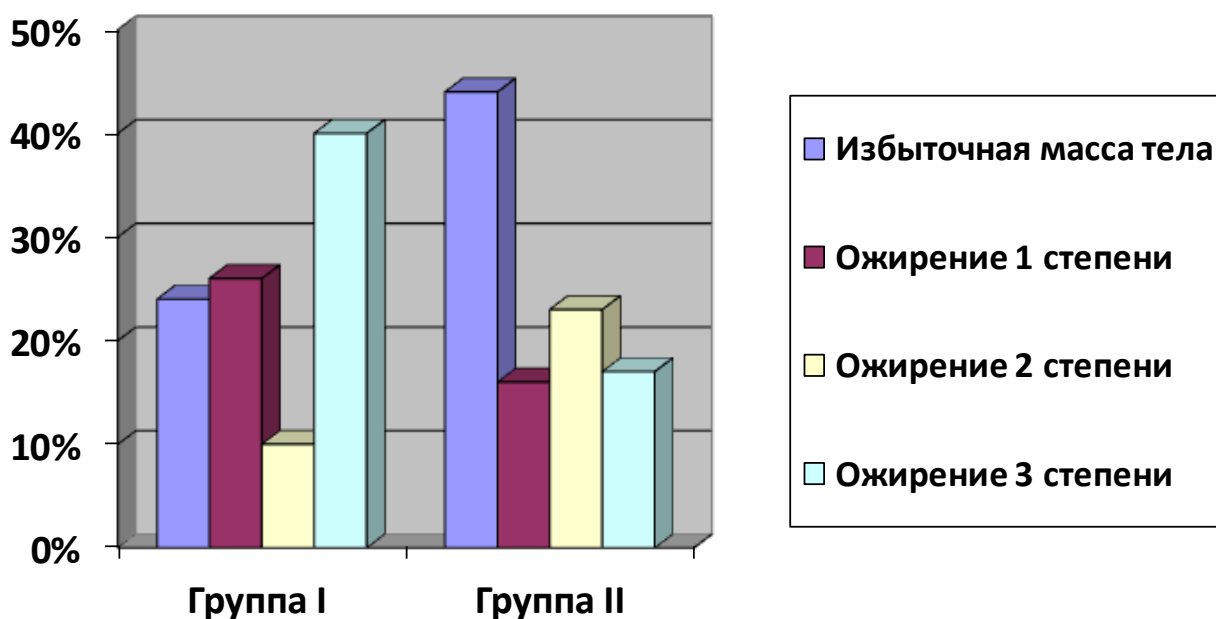


Рисунок 2 – Ассоциация ожирения и ЦП

Для выявления возможных различий между пациентами с ЦП (группа I) и пациентами с НАЖБП на нецирротической стадии (группа II) был проведен сравнительный анализ их основных лабораторных показателей. Результаты анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика пациентов групп I и II по основным лабораторным показателям

Показатель	Цирроз (n=30) Me (IQR)	НАЖБП (n=46) Me (IQR)	p
1	2	3	4
Общий белок (г/л)	65,6 (57- 76)	73 г/л (70- 76)	0,034*
Альбумин (г/л)	35,3 (25- 40)	45,5г/л (42- 49)	< 0,01*
СКФ по СКD-EPI (мл/мин/1,73м ²)	65,5 (49-75)	67 (60-79)	0,357
Билирубин общий (мкмоль/л)	23,2 (18,1- 44)	11 (9- 14,8)	< 0,01*
Билирубин прямой (мкмоль/л)	8,8 (5- 16)	3 (2- 3,9)	< 0,01*
АЛТ (МЕ/л)	24,3 (20- 33,8)	23 (19- 33)	0,593

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
АСТ (МЕ/л)	35 (23 -45,3)	22 (19 -29)	< 0,01*
γ-ГТП (МЕ/л)	45 (29,7- 145)	28 (22- 44)	< 0,01*
ЩФ (МЕ/л)	185,6 (134- 273)	155 (127- 203)	0,076
Глюкоза (ммоль/л)	6,8 (5,2- 7,3)	7,7 (6,3- 9,3)	< 0,01*
Холестерин (мкмоль/л)	4,8 (4- 6,3)	5 (4,4- 5,9)	0,536
Триглицериды (мкмоль/л)	1,3 (0,67- 1,76)	1,56 (1,23- 2,54)	< 0,01*
ЛПВП (ммоль/л)	1,05 (1-1,2)	1,3 (1,01- 1,6)	0,01*
Протромбин по Квику (%)	67 (50- 79)	107 (97- 120,1)	< 0,01*
МНО	1,32 (1,19- 1,43)	0,98 (0,93- 1,010)	< 0,01*

* различия статистически значимые ($p < 0,05$)

Как видно из данных, представленных в таблице, статистически значимые различия были выявлены в значениях лабораторных показателей, характеризующих функциональное состояние печени. У пациентов с ЦП (группа I) в отличие от пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии (группа II) наблюдались гипоальбуминемия, коагулопатия наиболее вероятно из-за снижения синтетической функции печени, чем также отчасти объясняется и снижение уровня ЛПВП и ТГ. Кроме того, у пациентов группы I наблюдалось статистически значимое повышение общего и прямого билирубина, γ-ГТП, что вероятно связано с наличием более выраженного внутридолькового гепатоцеллюлярного холестаза. Важно отметить, что у пациентов с ЦП не только наблюдались более высокие значения γ-ГТП по сравнению с пациентами с НАЖБП на нецирротической стадии, но и доля пациентов, у которых данный показатель был повышен, в группе I была больше чем в группе II (76% против 32%). Кроме того, у пациентов с ЦП также отмечалось более значимое увеличение АСТ. В целом для НАЖБП более характерно повышение АЛТ. Однако существует мнение, что для пациентов с прогрессирующим течением заболевания и развитием значимого фиброза печени более характерно увеличение уровня АСТ (Ивашкин В.Т. и др., 2016).

В дальнейшем был проведен сравнительный анализ сопутствующей патологии у пациентов с ЦП и у пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии (таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная характеристика сопутствующей патологии у пациентов группы I и группы II

Заболевание	ЦП (n=30)	НАЖБП (n=46)	p
Артериальная гипертензия	24 чел./80%	38 чел./82%	0,775
Сахарный диабет 2 типа	21 чел./70%	35 чел./76%	0,747
Желчекаменная болезнь	16 чел./53%	14 чел./30%	0,0459*
Хронический панкреатит	12 чел./40%	25 чел./54%	0,221
Дислипидемия	7 чел./23%	36 чел./58%	0,00033*
Хроническая болезнь почек	10 чел./33%	10 чел./21%	0,261
Железодефицитная анемия	12 чел./40%	1 чел./2%	0,0001*
Ишемическая болезнь сердца, в т.ч. острый инфаркт миокарда	9 чел./30%	10 чел./21%	0,827
Хроническая ишемия головного мозга	9 чел./30%	12 чел./26%	0,912
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	4 чел./13%	7 чел./15%	1,00
Функциональная диспепсия	6 чел./ 20%	5 чел./10%	0,439
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	4 чел./13%	8 чел./17%	0,754
Варикозная болезнь нижних конечностей	5 чел./16%	8 чел./17%	0,818
Хроническая обструктивная болезнь легких	4 чел./13%	1 чел./2%	0,075
Хронический аутоиммунный тиреоидит	1 чел./3%	9 чел./19%	0,078
Многоузловой эутиреоидный зоб	1 чел./3%	6 чел./13%	0,233

* различия статистически значимые ($p < 0,05$)

Как видно из данных представленных в таблице, статистически достоверная связь была получена между ЦП и частотой выявления желчекаменной болезни (ЖКБ), железодефицитной

анемии (ЖДА) и дислипидемии. ЖКБ и ЖДА у пациентов группы I встречались чаще, чем у пациентов группы II. В ряде исследований было продемонстрировано, что у пациентов с более выраженным фиброзом чаще наблюдается ЖКБ (Fracanzani A.L. et al., 2012, Park J.H. et al., 2013). Более высокая распространённость ЖДА связана с наличием геморрагических осложнений у пациентов группы I в прошлом по данным предоставленной медицинской документации. Дислипидемия у пациентов с НАЖБП встречалась достоверно чаще, чем у пациентов с ЦП. Данный факт объясняется тем, что у пациентов с ЦП ухудшается синтетическая функция печени, в частности синтез липидов, что согласуется с результатами сравнительного анализ лабораторных показателей (таблица 2) и данными сторонних исследований (Chrostek L. et al., 2014, 176. Siddiqui M.S. et al., 2015).

Дополнительно был проведен анализ результатов расчета индексов APRI, NFS, FIB4 у пациентов группы I и II, результаты которого представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Сравнительный анализ полученных результатов расчёта индексов APRI, NFS, FIB4 пациентов групп I и II.

Показатель	ЦП (n=30) Me (IQR)	НАЖБП без ЦП (n=46) Me (IQR)	p
APRI	0,724 (0,42-1,83)	0,306 (0,229-0,372)	< 0,01
NFS	2,98 (1,25-3,99)	0,186 (- 1,39-0,82)	< 0,01
FIB4	2,77 (2,21-5,82)	1,35 (0,73-1,43)	< 0,01

* различия статистически значимые (p<0,05)

Как видно из данных представленных в таблице 4, при сравнении полученных результатов тестов у пациентов с НАЖБП и ЦП наблюдались статистически значимые различия. Однако следует отметить, что только у 49 % пациентов с выраженным фиброзом печени (F3-F4) результат расчёта индекса APRI соответствовал его наличию, а индекса FIB 4 у 35% пациентов данной категории, в то время как при использовании индекса NFS результат был положительным у 73% участников с выраженным фиброзом печени.

В группе лиц с менее выраженными изменениями (F0-F2) наличие поздних стадий заболевания (F3-F4) было исключено с помощью APRI у 90% пациентов, FIB4 у 54%, NFS у 32%. Таким образом, использование NFS более предпочтительно для оценки выраженности фиброза у больных этой категории, поскольку уровень положительной прогностической

значимости у данного метода значительно выше, чем у APRI и FIB 4. Однако NFS имеет низкую отрицательную прогностическую значимость и большую долю неопределенного результата у пациентов с начальными стадиями фиброза печени (51%). В целом метод может быть рекомендован для предварительной оценки фиброза печени с последующим применением инструментальной диагностики.

При изучении генетических факторов был проведен анализ распределения генотипов гена PNPLA3 rs738409 у пациентов разных групп (рисунок 3).

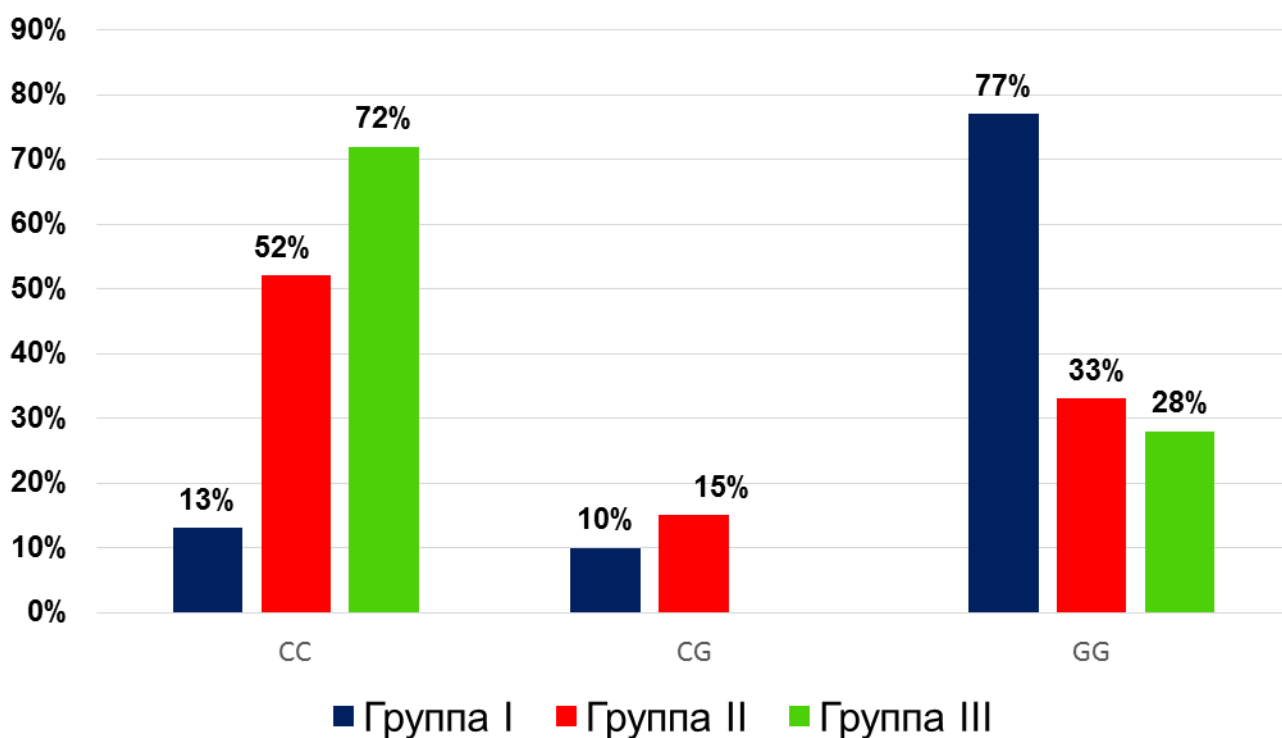


Рисунок 3 – Распределение генотипов гена PNPLA3 у пациентов, включенных в исследование

Как видно из данных представленных на гистограмме, наиболее часто у пациентов с ЦП был выявлен генотип GG, в то время как у пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии и здоровых добровольцев – генотип CC. При оценке ассоциации между ЦП и наличием мутации в гене PNPLA3 была получена статистически достоверная связь (OR- 3,474; 95% ДИ: 1,572-8.131; $\chi^2=11,32$; $p=0,00076$).

Дополнительно нами был проведен анализ распространенности вариантов гена PNPLA3 у пациентов с различными стадиями фиброза (таблица 5).

Таблица 5 – Частота встречаемости вариантов гена PNPLA3 у пациентов групп I и II в зависимости от стадии фиброза

Генотип \ Стадия	F0 (n=11)	F1 (n=7)	F2 (n=17)	F3 (n=11)	F4 (n=26)	χ^2	p
CC	8	5	8	3	3	22,623	<0,01
GG	1	2	6	6	21		
CG	1	1	3	2	2		

Как следует из данных, представленных в таблице, по мере увеличения частоты встречаемости генотипа GG повышается и стадия фиброза, и, наоборот, у пациентов, у которых наблюдались минимальные изменения в печени (F0-F1) наиболее часто выявлялся генотип CC. Как показали результаты проведенного анализа, данная закономерность была статистически значимой. Таким образом, из вышеизложенного следует, что наличие мутации в гене PNPLA3 (присутствие аллеля G) является предиктором наиболее агрессивного течения НАЖБП.

В дальнейшем мы провели сравнительный анализ основных лабораторных и антропометрических показателей. Для этой цели мы разделили пациентов группы II на три подгруппы в зависимости от генотипа (CC – 24 участника, CG – 7 участников, GG – 15 участников). Данные пациентов с ЦП (группы I) при статистической обработке не включались из-за исходно более глубокого нарушения функции печени. Как показали результаты анализа, статистически значимые различия наблюдались в значениях ИМТ и уровня ТГ (рисунки 4,5), хотя уровни ЛПВП ($p=0,84$) и холестерина ($p=0,130$) статистически не различались. Эти данные дают основание полагать, что негативное влияние полиморфизма гена PNPLA3 rs738409 может быть реализовано и у лиц, у которых нет признаков МС.

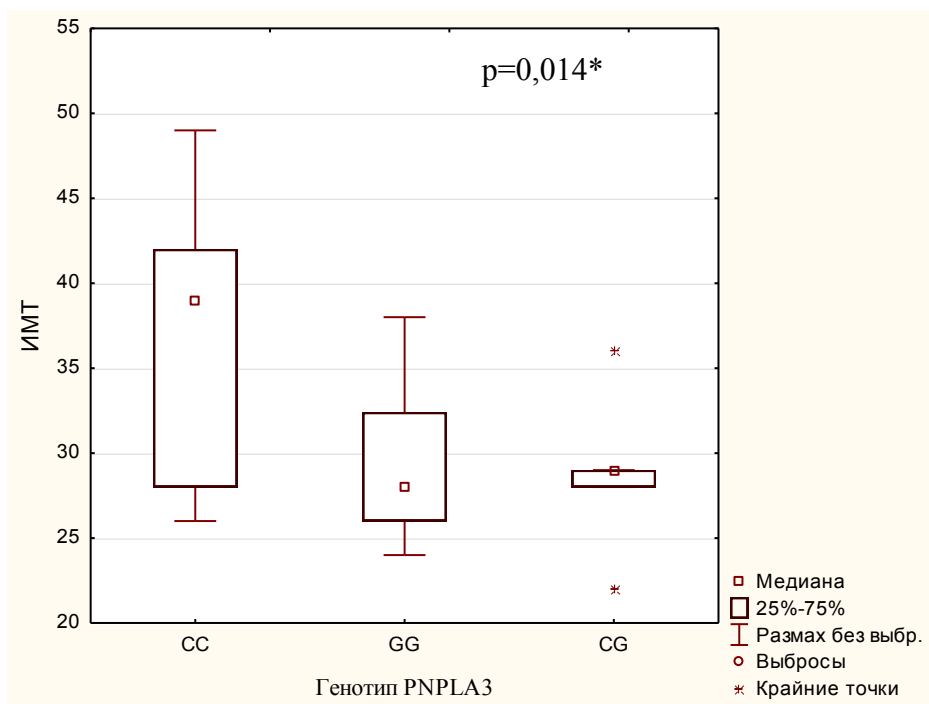


Рисунок 4 – ИМТ у пациентов группы II в зависимости от варианта гена PNPLA3

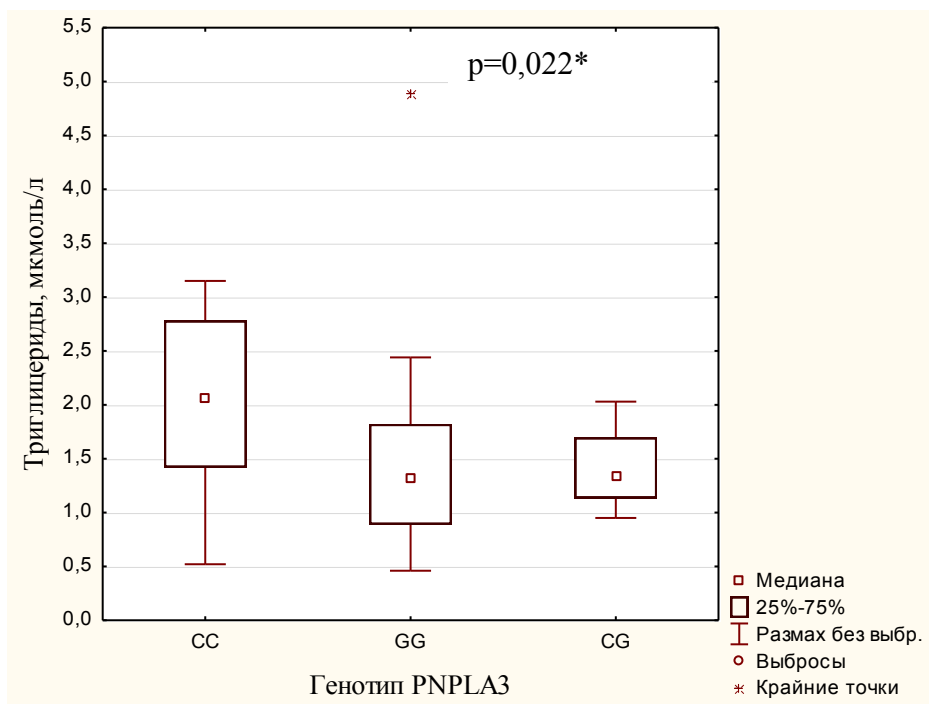


Рисунок 5 – Уровень триглицеридов в зависимости от генотипа PNPLA3

С целью дальнейшего изучения влияния генетических факторов на течение НАЖБП нами также был проведен анализ распределения полиморфизма гена FGF21 rs838133 (рисунок 6).

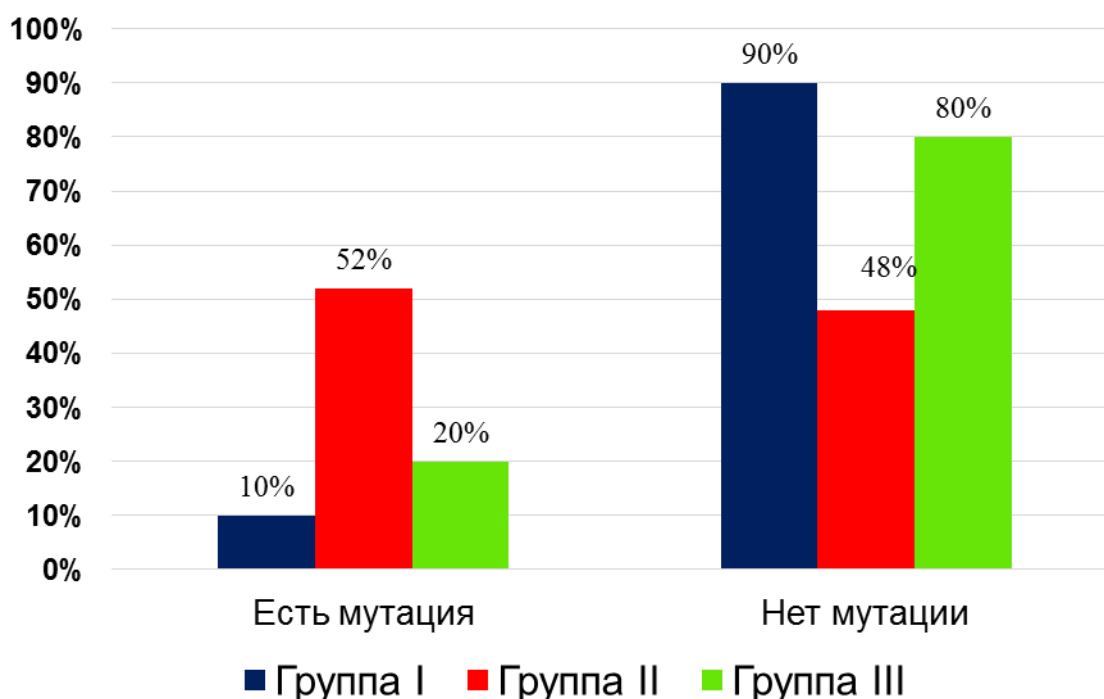


Рисунок 6 – Частота встречаемости полиморфизма FGF21 rs838133 у участников исследования

Данная мутация встречалась у 10% пациентов с ЦП, у 52% пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии и у 20% здоровых добровольцев. При первичной оценке ассоциация между мутацией и ЦП была статистически значимой ($\chi^2=14,12$; $p=0,00086$). Тем не менее, при исключении пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии из анализа эта связь была потеряна ($p=0,43893$). При объединении пациентов группы с НАЖБП на цирротической и нецирротической стадиях была получена статистически достоверная связь между НАЖБП и мутацией в гене (OR-1,6; 95% ДИ: 1,102- 2,322; $\chi^2=5,296154$; $p=0,02137$).

С целью дальнейшего анализа возможной связи полиморфизма гена FGF21 rs838133 с НАЖБП и тяжестью течения данного заболевания пациенты группы II были условно разделены в зависимости от наличия/отсутствия полиморфизма FGF21 rs838133 на две подгруппы. Во избежание искажения результатов вследствие более глубокого нарушения функции печени у пациентов с ЦП (группа I) их данные в анализ не включались. Тем не менее, статистически значимых различий между пациентами с НАЖБП на цирротической и нецирротической стадии в значениях основных антропометрических и лабораторных показателей получено не было. Таким образом, можно сделать вывод, что наличие полиморфизма способствует развитию НАЖБП без влияния на тяжесть течения заболевания.

Выводы

1. НАЖБП хроническое медленно прогрессирующее заболевание печени, выявляемое наиболее часто в возрасте более 50 лет преимущественно у женщин, часто сочетающееся с СД 2 типа, АГ и ЖКБ.
2. Наиболее объективным индексом неинвазивной оценки степени фиброза печени как элемента прогрессирования НАЖБП является NFS.
3. НАЖБП на нецирротической стадии характеризуется скудностью клинических проявлений, которые не носят специфического характера: умеренная гепатомегалия, минимальный цитолиз, повышение уровня γ -ГТП. Цирротическая стадия НАЖБП представлена типичными клинико-лабораторными синдромами, характерными для ЦП.
4. Длительность заболевания с момента установления диагноза, ожирение высокой степени (ИМТ свыше 40 кг/м²), сопутствующая ЖКБ и хронически повышенный уровень γ -ГТП при лабораторном исследовании являются независимыми маркерами НАЖБП и определяют тяжесть ее течения.
5. У здоровых добровольцев в московской популяции и у пациентов с НАЖБП на нецирротической стадии наиболее часто встречался «дикий» тип гена PNPLA3, в то время как у пациентов с ЦП в исходе НАЖБП, напротив, преобладал мутантный тип гена PNPLA3 (rs738409, аллель G).
6. Гомозиготный генотип PNPLA3 (GG) достоверно чаще ассоциировался с продвинутой стадией фиброза печени (F3-F4) у пациентов на нецирротической стадии НАЖБП и у пациентов с ЦП. Важно отметить, что у носителей полиморфизма прогрессирование заболевания возможно при отсутствии выраженных проявлений МС.
7. У лиц в московской популяции преобладает «дикий тип» гена FGF21. Достоверно чаще мутация гена FGF21 встречается в группе пациентов на нецирротической стадии НАЖБП, однако она не ассоциировалась с тяжестью течения заболевания.

Практические рекомендации

1. С целью оценки прогноза прогрессирования НАЖБП целесообразно учитывать длительность заболевания с момента установления диагноза, возраст пациентов, а также их коморбидный фон.
2. Наличие ожирения, хронического холестаза и ЖКБ у пациентов с НАЖБП, повышенных уровней γ -ГТП и более высокие значения АСТ в сравнении с АЛТ является

дополнительным основанием для более тщательного диспансерного наблюдения за данной категорией больных. В комплексную программу обследования пациентов на нецирротической стадии НАЖБП для оценки наличия выраженного фиброза печени целесообразно использование метода NFS.

3. В программу комплексного клинического обследования пациентов с НАЖБП (особенно важно на доцирротической стадии) целесообразно включать определение полиморфизма гена PNPLA3 rs738409 с целью прогнозирования риска развития ЦП.
4. Достоверно более частая встречаемость полиморфного варианта гена FGF21 rs838133 среди пациентов с НАЖБП по сравнению со здоровой популяцией определяет этот вариант полиморфизма как «кандидатный» в российской популяции и может применяться для оценки риска развития НАЖБП в целом. Однако полиморфизм гена FGF21 rs838133 у больных с НАЖБП не был ассоциирован с достоверно более высоким риском развития ЦП, а также не коррелировал с тяжестью течения заболевания, в связи с чем рекомендация включения данного исследования в диагностический перечень у пациентов с НАЖБП с целью оценки риска развития ЦП и предсказания тяжести заболевания является нецелесообразной.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тихомирова А.С. Подходы к терапии неалкогольной жировой болезни печени / Тихомирова А.С., Байкова И.Е., Гогова Л.М. и др. // РМЖ. – 2017. – №10. – С. 738-744.
2. Тихомирова А.С. Клинико-морфологические параллели полиморфизма гена PNPLA3 у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени / Тихомирова А.С., Кисляков В.А., Байкова И.Е. и др. // Терапевтический архив. – 2018. – Т.90, №2. – С. 85-89.
3. Тихомирова А. С. Текущие направления и будущие перспективы лечения неалкогольной жировой болезни печени / Тихомирова А. С., Никитин И. Г., Кисляков В. А. //Ремедиум Приволжье. Консилиум Гастроэнтерология. – 2018. – № 9 (168). – С. 14-21
4. Тихомирова А.С. Полиморфизм гена PNPLA3 повышает риск развития цирроза печени в исходе неалкогольного стеатогепатита в российской популяции / Никитин И.Г., Кисляков В.А., Тихомирова А.С. // Материалы международной научно-практической конференции «Наука сегодня: глобальные вызовы и механизмы развития» - г. Вологда, 2019г. – С. 157-159.
5. Тихомирова А.С. Связь гена, кодирующего пататино-подобную фосфолипазу 3, и цирроза печени в исходе неалкогольного стеатогепатита / Никитин И.Г., Тихомирова

А.С. // Сборник тезисов III Терапевтического форума "Мультидисциплинарный больной", III Всероссийской конференции молодых терапевтов» - г. Москва. 2019. – С. 59-60.

6. Тихомирова А.С. Связь цирроза печени в исходе неалкогольной жировой болезнью печени с полиморфизмом гена PNPLA3 rs738409 / Никитин И.Г., Тихомирова А.С., Жинжило Т.А. и др. // Архивъ внутренней медицины. – 2020. – Т. 10, №2. – С. 148 – 154.