

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ГЕЙВАНДОВА ТАТЬЯНА ВАЛЕРЬЕВНА

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

3.1.18 – внутренние болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Ягода Александр Валентинович

Ставрополь – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	16
1.1. Эпидемиология ожирения. Социальное значение проблемы ожирения	16
1.2. Ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени	17
1.3. Генетическая предрасположенность к неалкогольной жировой болезни печени	19
1.4. Лептин, его продукция в организме и физиологическое значение	23
1.5. Лептин и его рецепторы при ожирении и другой патологии.....	26
1.5.1. Лептинорезистентность.....	27
1.5.2. Лептин и полиморфизм его рецептора при неалкогольной жировой болезни печени.....	30
1.6. Полиморфизм гена FTO при ожирении и неалкогольной жировой болезни печени.....	34
1.7. Принципы лечения пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени.....	39
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ.....	44
ГЛАВА 3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	57
3.1. Общие клинические и лабораторно-инструментальные методы исследования	57
3.2. Специальные методы исследования	59
3.2.1. Анкетирование пациентов для выявления нарушений пищевого поведения	59
3.2.2. Молекулярно-генетические исследования	60
3.2.3. Определение в крови уровней лептина и его растворимого	

рецептора методом иммуноферментного анализа	62
3.2.4. Статистическая обработка результатов исследования	64
ГЛАВА 4. БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ).....	66
4.1. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина и со- держание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных не- алкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирени- ем.....	66
4.1.1. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у боль- ных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен липидов	73
4.1.2. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у боль- ных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен углеводов.....	75
4.1.3. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у боль- ных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и биохимические синдромы.....	78
4.1.4. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у боль- ных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и данные ультразвукового исследова- ния.....	81
4.1.5. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у боль- ных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с	

ожирением, и результаты гистологического исследования.....	85
4.2. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением.....	94
4.2.1. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен липидов.....	97
4.2.2. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен углеводов	98
4.2.3. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и биохимические синдромы	99
4.2.4. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и данные ультразвукового исследования	101
4.2.5. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и результаты гистологического исследования	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	111
ВЫВОДЫ.....	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	125
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129
ПРИЛОЖЕНИЕ	164

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время неалкогольная жировая болезнь печени является одним из доминирующих заболеваний печени в мире. Распространенность НАЖБП растет, у части больных приобретает прогрессирующий характер, что приводит к значительному увеличению затрат медицинских ресурсов [64]. Рост заболевания тесно связан с происходящей в мире пандемией ожирения. Уже в 2016 году по данным Всемирной организации здравоохранения более 1,9 млрд взрослых имели избыточную массу тела, из них более 650 млн страдали ожирением [15, 207]. Прогнозируют, что к 2030 году 60% населения планеты будут иметь ожирение или избыточную массу тела, если сохранится имеющаяся тенденция роста ожирения [125]. В России в 2016 году лица с избыточной массой тела составляли 62,0%, а с ожирением – 26,2% [8]. Распространенность НАЖБП увеличивается до двух третей у лиц с ожирением и присутствует более, чем у 90% лиц с ожирением третьей степени [149].

Неалкогольная жировая болезнь печени является одной из ведущих причин хронических заболеваний печени в США, где диагностируется у 20-30% населения [71]. Считается, что НАЖБП поражает почти 25% населения планеты [126]. В России многоцентровое исследование DIREG2 продемонстрировало наличие НАЖБП у 37,3% пациентов амбулаторного звена в [17]. Неалкогольный стеатогепатит как клинический вариант НАЖБП (5-20% всех случаев) становится ведущим показанием для трансплантации печени и одной из причин развития гепатоцеллюлярной карциномы [117, 192, 255, 287]. Выраженный фиброз/цирроз печени развивается в 10-20% случаев стеатогепатита [287].

НАЖБП принято рассматривать как одно из ассоциированных с метаболическим синдромом заболеваний или как патогенетическую детерминанту метаболического синдрома [59, 126, 204, 262]. При этом появляется все

больше доказательств, подтверждающих представление о НАЖБП как о предшественнике сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома [40]. Важным патогенетическим звеном ассоциированной с ожирением НАЖБП является наличие нарушения системного энергетического баланса, приводящее к избытку субстратов, преимущественно углеводов и жирных кислот. При этом в настоящее время НАЖБП рассматривают как заболевание с мультифакторным патогенезом, при котором важная роль отводится инсулинорезистентности, липотоксичности, митохондриальной дисфункции, дисбалансу цитокинов и адипокинов, приводящих наряду с воздействием экологических и генетических факторов, к развитию воспалительной реакции в ткани печени, активации иннантного иммунитета и микробиоты кишечника, нарушению функционирования оси «кишечник-печень» [12, 59, 214, 289]. Однако многие аспекты патогенеза остаются недостаточно понятными.

Степень разработанности темы исследования

Особый интерес вызывает генетическая детерминированность ожирения и, особенно, НАЖБП. В патогенезе жировой болезни печени обсуждается участие полиморфизма генов, кодирующих различные звенья обмена липидов (гены микросомального триглицеридного трансферного протеина, аполипопротеинов С3 и Е), роль генов эндотоксинового рецептора CD14, ангиотензина II типа 1, TNF- α , TGF- β , супероксиддисмутазы-2, рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором – PPARs, пататиноподобного фосфолипазного домена, содержащего белок 3 – PNPLA3, кодирующего белок липидной капли и многих других [3, 9, 41, 49, 84, 281]. Все эти мутации способны повышать риски развития стеатогепатита и прогрессирования фиброза.

При НАЖБП, развивающейся на фоне ожирения, наибольший интерес вызывают полиморфизмы генов, кодирующих адипокины. Так, при НАЖБП чаще, чем в общей популяции, отмечены олигонуклеотидные полиморфизмы

адипонектина 45TT и 276GT, которые коррелируют с тяжестью заболевания печени [33]. Лептин – важный адипокин, являющийся сигналом для отрицательной обратной связи в центральной нервной системе, способный регулировать аппетит и метаболизм [196]. Мутации в генах лептина и его рецептора могут приводить к гиперлептинемии и лептинорезистентности, которые рассматриваются как один из возможных механизмов развития ожирения [150]. При ожирении наблюдается повышенная экспрессия гена лептина в жировой ткани, что приводит к повышению уровня циркулирующего лептина. Имеются факты, свидетельствующие о присутствии лептинорезистентности у лиц с НАЖБП [245]. Полиморфизм гена рецептора лептина (Gln223Arg) способен быть фактором риска развития жировой болезни печени [121]. Аллель 223Gln в гомозиготном состоянии преобладает при НАЖБП по сравнению со здоровыми людьми [291]. Рецептор лептина принадлежит к семейству цитокинов 1 класса и может служить маркером чувствительности тканей к лептину [290]. Циркулирующая растворимая форма рецептора лептина – основной лептин-связывающий протеин, формирующий комплексы с лептином. Баланс между свободной и связанной формами лептина определяет его биодоступность [252]. При этом данные о влиянии полиморфизма Gln223Arg LEPR на уровни в крови лептина и его растворимого рецептора при жировой болезни печени немногочисленны. Уточнение роли ПЕН Gln223Arg LEPR в нарушениях продукции лептина и sLep-R у больных НАЖБП на фоне ожирения может иметь важное клиническое значение для понимания механизмов развития лептинорезистентности и поиска новых биомаркеров жировой болезни печени.

Мощными генетическими факторами, предрасполагающими к развитию ожирения, являются полиморфизмы гена FTO (fat mass and obesity associated) [69, 114]. Генетическая вариабельность в локусе FTO оказывает значительное влияние на возникновение ожирения, инсулинорезистентности и способствует гиперлептинемии [123]. Аллель А гена FTO (rs9939609) и гомозиготный генотип АА ассоциированы с избыточной массой тела, абдоминальным ожирением, сниженным липолизом, нарушением контроля аппетита

и развитием сахарного диабета 2-го типа в сравнении с носителями генотипов ТА и ТТ [2, 5]. Вместе с тем влияние мутаций гена FTO на патогенез НАЖБП и, особенно, стеатогепатита изучено недостаточно. Имеются сведения, что экспрессия FTO повышается у пациентов с НАЖБП, а также в эксперименте на животных, вызывая аккумуляцию липидов в печени [37, 113, 130]. Детализация роли мутаций гена FTO может внести значительный вклад в понимание механизмов развития НАЖБП.

Цель исследования

Изучить клиническое и прогностическое значение биохимических и генетических маркеров ожирения у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением.

Задачи исследования:

1. Определить распространенность олигонуклеотидных полиморфизмов гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO rs9939609 Т/А у больных неалкогольной жировой болезнью печени.
2. Определить взаимосвязь изученных генетических полиморфизмов с основными клиническими и лабораторными синдромами при неалкогольной жировой болезни печени.
3. Определить зависимость основных клинико-лабораторных синдромов патологии печени от уровней лептина и растворимого рецептора лептина в крови больных.
4. Изучить зависимость уровней циркулирующих лептина и растворимого рецептора лептина от наличия олигонуклеотидных полиморфизмов генов рецептора лептина.
5. Изучить взаимосвязь полиморфизмов гена рецептора лептина, гена FTO, содержания в крови лептина и растворимого рецептора лептина с

гистологической картиной стеатоза и фиброза печени для разработки неинвазивных критериев диагностики.

б. На основании полученных данных выделить группы пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, имеющих высокий риск прогрессирования фиброза для дифференцированного подхода к выбору лечебной тактики.

Научная новизна исследования

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

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

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

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

Впервые доказано, что у пациентов с гомозиготным генотипом Arg223Arg содержание в крови лептина и индекс свободного лептина ниже, чем у пациентов с наличием минорного аллеля 223Gln. Повышение в крови ХсЛПНП и триглицеридов у больных НАЖБП зависит от присутствия аллеля

223Gln и коррелирует с содержанием лептина и соотношением Lep/sLep-R, а аллель А гена FTO сопровождается гипертриглицеридемией.

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

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

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

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

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

Теоретическая и практическая значимость исследования

Комплексное изучение полиморфизмов гена рецептора лептина и гена FTO, содержания в крови лептина и его растворимого рецептора, обнаруже-

ние их взаимосвязи со степенью ожирения, основными биохимическими синдромами и выраженностью стеатоза и фиброза печени расширяют имеющиеся представления о механизмах прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени.

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

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

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

Методология и методы исследования

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

Диссертационная работа представляет собой прикладное научное исследование, решающее актуальную задачу оптимизации лечебно-

диагностических мероприятий путем выявления различных биомаркеров, прогнозирующих течение и прогрессирование заболевания у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением.

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

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

Основные положения, выносимые на защиту:

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

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

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

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

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

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

Степень достоверности исследования

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

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

Личный вклад автора в получении научных результатов

При непосредственном участии диссертанта на основе патентно-информационного поиска, анализа научной литературы, обоснования научного направления сформулированы цель и задачи, определены критерии включения и невключения, дизайн и материал исследования. Диссертантом

отобраны и обследованы пациенты с неалкогольной жировой болезнью печени, изучены данные их клинических, лабораторных и гистологических исследований, проведено анкетирование нарушений пищевого поведения пациентов, обследованы лица группы контроля, заполнены индивидуальные регистрационные карты, информация из которых внесена в электронную базу. Автор диссертации принимал участие в определении содержания лептина и растворимого рецептора лептина в крови обследованных лиц, а также участвовал в генетическом анализе мутаций рецептора лептина и гена FTO. Исследователь осуществил статистический анализ данных. Автором были проанализированы, систематизированы полученные результаты, сопоставлены с данными других исследователей, на основании чего сформулированы выводы и практические рекомендации. Диссертантом были написаны все разделы диссертационного исследования и внедрены в клиническую практику практические рекомендации. Результаты работы обсуждены и отражены автором в публикациях и докладах, в которых личный вклад автора является определяющим.

Практическое использование результатов исследования

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

Публикации и апробация результатов работы

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований (Эффективная фармако-терапия, 2019; Терапия, 2019, 2021).

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

ГЛАВА 1. БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Эпидемиология ожирения. Социальное значение проблемы ожирения

Ожирение тесно связано с различными метаболическими нарушениями, включая дислипидемию, сердечно-сосудистые заболевания, инсулинорезистентность и сахарный диабет 2-го типа. В связи с быстрым ростом ожирение приобретает характер глобальной эпидемии, становится сложной проблемой здравоохранения. Уже в 2008 году более 1,4 миллиарда взрослых людей во всем мире имели избыточный вес ($\text{ИМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$), а также около 500 миллионов взрослых людей во всем мире страдали ожирением ($\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$) [197]. Распространенность ожирения резко возросла в последние десятилетия, и было подсчитано, что в 2016 году более 650 миллионов взрослых, или 13% населения мира, страдали ожирением [207]. Глобальная эпидемия ожирения привела к увеличению распространенности жировой болезни печени. В настоящее время от 14% до 27% населения в целом в промышленно развитом мире имеет неалкогольную жировую болезнь печени. Примерно у 5-20% пациентов с НАЖБП развивается стеатогепатит, при котором в дальнейшем развивается высокая степень фиброза в 10-20% случаев [287].

Медицинские расходы, связанные с ожирением и ассоциированной с ней НАЖБП могут стать тяжелым социальным бременем. Неалкогольная жировая болезнь печени и, в частности, неалкогольный стеатогепатит становятся все более распространенными и все чаще становятся причиной цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы во всем мире. Ожидается, что это бремя будет возрастать по мере роста частоты ожирения, сахарного диабета и метаболического синдрома [81, 94, 191, 201, 202]. Была построена математическая модель по данным 8 стран, которая показала, что если ожирение и СД будут

продолжать расти текущими темпами, то ожидается, что распространенность НАЖБП и стеатогепатита увеличится в ближайшие годы, а также более чем двухкратно вырастет число случаев прогрессирующей формы заболевания и связанной с ней смертности в результате старения/увеличения населения [191].

Совершенно очевидно, что ожирение часто встречается в определенных семьях. Наличие родственников, страдающих ожирением, повышает риск набора массы тела, даже если члены семьи не живут вместе и имеют разную модель пищевого поведения. Считается, что причиной ожирения является тенденция к снижению физической активности и увеличение потребления калорий. Но важно понимать, что генетический фон каждого человека остается важным фактором, определяющим предрасположенность к ожирению. Обнаружение генов, связанных с развитием ожирения, поможет врачам и ученым в разработке более эффективных методов лечения и выявлении лиц с высоким риском развития ожирения для раннего вмешательства [181].

1.2. Ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени

Актуальность НАЖБП и особенно стеатогепатита для здравоохранения хорошо известна, но все-таки недостаточно оценена. Метаанализ 6 исследований, включивших более 25000 пациентов, показал, что ожирение являлось независимым фактором риска развития НАЖБП с ОШ равным 3,53 [176]. В другом метаанализе, включившим данных обследования более 8,5 млн человек из 22 стран, было продемонстрировано, что свыше 80% пациентов с неалкогольным стеатогепатитом имели избыточную массу тела или ожирение, у 72% обнаруживалась дислипидемия, у 44% диагностировался СД 2-го типа [126]. С 2000 по 2014 годы в США доля лиц, страдающих ожирением, возросла на 44,9%, а число пациентов, ожидающих трансплантацию печени из-за цирроза в исходе НАСГ, увеличилось с 391 до 1605. Исходя из этих дан-

ных, ожидается, что ежегодные дополнения списков ожидания, связанные с НАЖБП, увеличатся на 55,4% между 2016 и 2030 годами [62, 229].

По последним данным в США НАЖБП и неалкогольный стеатогепатит поражают соответственно 30% и 5% населения [71]. Австралийские исследователи прогнозируют, что число случаев прогрессирования заболевания увеличится до 85% в 2030 году, а число смертей от НАЖБП увеличится относительно 2019 г. на 85% в 2030 г. [203]. Жировая дистрофия печени, по данным сонографии, при масштабном амбулаторном исследовании широко была распространена среди пожилого азиатского населения (лица старше 65 лет) и поражала более 40% этой популяции [187]. В России, по данным исследования DIREG 2, распространенность НАЖБП у амбулаторных пациентов составила 37,3%, при этом у 24,4% из них находили НАСГ, а у 2% сформировался цирроз печени [17].

Ожирение является одним из ведущих факторов риска формирования неалкогольной жировой болезни печени, включающую в себя два основных варианта – стеатоз и неалкогольный стеатогепатит [52, 178]. Наличие висцерального ожирения в 95-100% случаев ассоциировано с развитием НАЖБП [11, 216]. Стеатогепатит может прогрессировать в цирроз печени и вызывать рак печени. Так НАЖБП широко распространена у лиц с морбидным ожирением, которые перенесли бариатрическую хирургию, несмотря на отсутствие МС [230].

Важное значение придается коморбидности при НАЖБП. Жировая болезнь является одним из клинических составляющих метаболического синдрома, при этом влияет на основные непеченочные ассоциативные проявления МС: сахарный диабет 2-го типа, сердечно-сосудистые заболевания и нарушение нейро-когнитивной функции. Важно отметить, что наличие неалкогольного стеатогепатита и развитого фиброза печени повышают риск развития системной сопутствующей патологии при НАЖБП. Появляются новые доказательства того, что именно метаболическое воспаление, частично исходящее из жировой ткани печени, является триггером, который приводит в

действие клеточную дисфункцию, гибель клеток и пагубное remodelирование в различных тканях организма [118].

Недавнее исследование на 1338 пациентах с НАСГ и прогрессирующим фиброзом, проведенное с помощью опросника SF-36, показало, что при стеатогепатите имелись более выраженные нарушения показателей физического здоровья, чем у сопоставимой группы больных хроническим гепатитом С [215]. Эти данные, по мнению исследователей, должны развеять заблуждение о том, что НАСГ является бессимптомным заболеванием с незначительным негативным влиянием на самочувствие пациентов.

Опасность НАЖБП на фоне ожирения заключается в возможности прогрессирования тяжести фиброза с формированием цирроза печени и развития гепатоцеллюлярного рака. По данным метаанализа, ожирение явилось фактором риска прогрессирования фиброза при НАЖБП [278]. У 365 японских пациентов с подтвержденной биопсией НАЖБП 10-летняя частота встречаемости ГЦК составила 20,1% в группе развитого фиброза [179].

1.3. Генетическая предрасположенность к неалкогольной жировой болезни печени

В настоящее время начальное представление о патогенезе НАЖБП как о теории «двух ударов» сменилось на идею мультифакторного патогенеза [59, 73]. Одним из ключевых моментов НАЖБП является наличие нарушенного состояния системного энергетического баланса, характеризующегося избытком субстратов, преимущественно углеводов и жирных кислот. Основными источниками доставки свободных (неэтерифицированных) жирных кислот в печень являются повышенное высвобождение из адипоцитов (примерно 60%), конверсия углеводов в печени (липогенез *de novo*, 26%) и избыточное потребление жиров в пищу (14%) [129, 213]. Центральная роль в патогенезе отводится инсулинорезистентности, характеризующейся снижением чувствительности периферических тканей (мышц, жировой ткани, печени) к

инсулину [29, 242]. Важное значение имеют развивающийся оксидативный стресс и митохондриальная дисфункция. В печени повышается синтез эндогенных жирных кислот, нарушается высвобождение ТГ из печени в виде ЛПОНП [4, 6, 14, 251]. В организме происходит повышение продукции провоспалительных цитокинов, и некоторых других факторов воспаления, что влечет за собой повреждение гепатоцитов и воспаление [7, 40, 59, 182]. Далее происходит активация звездчатых клеток печени, которые являются основным патогенетическим звеном фиброгенеза. Активированные ЗК превращаются в активированный фенотип (миофибробласты), активно пролиферируют и продуцируют коллаген, фибронектин, ламинин, гиалуроновую кислоту, матричные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы [4].

Важное значение в патогенезе НАЖБП имеет дисфункция кишечнопеченочной оси: дисбиоз кишечника, избыточный бактериальный рост и изменение проницаемости слизистой. Изменения кишечной микрофлоры ассоциированы с повышенной циркуляцией эндотоксина, дальнейшей активацией воспаления и прогрессированием фиброза в печени [16, 19, 42]. Кроме того, одним из ключевых моментов является дисбаланс продукции адипокинов – снижение выработки адипонектина и увеличение лептина, ведущие к нарушению пищевого поведения [6, 20]. Таким образом, становится очевидно, что в механизмах развития НАЖБП задействовано много различных факторов, однако в случаях развития заболевания на фоне избыточной массы тела роль ожирения и особенно висцерального ожирения является ключевой.

Предполагается, что имеется генетическая предрасположенность как для ожирения в целом, так и для НАЖБП в частности. Эпидемиологические, семейные и близнецовые исследования и изучение серий клинических случаев показали значительную роль фактора наследуемости при НАЖБП и стеатогепатите [95, 122, 131, 199]. Результаты исследования когорты Framingham Heart Study, показало, что факт присутствия НАЖБП у родителей увеличивает риск развития неалкогольного стеатоза у потомства. В частности, наличие у родителей печеночного стеатоза может быть важным фактором развития

НАЖБП даже среди тех потомков, у которых не было МС [210]. Отмечались и этнические различия в заболеваемости неалкогольной жировой болезнью печени и НАСГ [144, 227]. Оказалось, что латиноамериканцы подвержены более высокому риску, чем лица европейского происхождения, в то время как лица африканского происхождения защищены от этих состояний независимо от диабета и избыточной массы тела [95].

Обсуждается в литературе влияние на развитие НАЖБП полиморфизма самых разных генов: генов, кодирующих микросомальный триглицеридный трансферный протеин, эндотоксиновый рецептор CD14, ангиотензин, TNF- α , TGF- β , супероксиддисмутаза-2, фосфатидилэтаноламинотрансферазу и многих других [3, 9, 84]. Эти мутации могут повышать риск развития стеатогепатита и/или фиброза.

PNPLA3 – один из представителей семейства энзимов, участвующих в метаболизме липидов. Генетический полиморфизм PNPLA3 – один из наиболее обсуждаемых в отношении ассоциации его с НАЖБП. Kotronen A. и соавт. показали, что аллель G rs738409 ассоциировался с усиленной аккумуляцией жира в печени и воспалительным процессом, в то время как аллель T rs6006460 коррелирует с незначительной выраженностью стеатоза [23]. Полиморфизм PNPLA3 I148M – риск-фактор для стеатоза (PNPLA3/ rs738409 C/G single nucleotide). Худые пациенты с НАЖБП имели признаки нарушения толерантности к глюкозе при нормальном тощаковом уровне инсулина, низкий уровень адипонектина, высокую частоту мутантного варианта PNPLA3 CG/GG по сравнению со здоровыми [66]. Исследования различных этнических популяций указало, что гомозиготный ген в варианте rs738409 GG свойствен пациентам с неалкогольным стеатогепатитом [27, 145]. Генотип GG PNPLA3 rs738409 встречался чаще и коррелировал с ИМТ и степенью фиброза среди пациентов с ГЦК, возникшей на фоне НАЖБП [271].

Аполипопротеин С3 является важным компонентом холестерина ЛПОНП, хиломикрон и ЛПВП, который способен ингибировать липопротеинлипазу и клиренс триглицеридов [105]. Petersen K.F. и соавт. сообщали,

что два распространенных варианта промотора АРОС3 Т-455С и С-482Т предрасполагают к накоплению жира в печени у лиц индийской популяции [41]. Однако эти данные не были подтверждены в крупных популяционных исследованиях в других этнических группах. Кроме того, варианты АРОС3 не были связаны с гистологической тяжестью поражения печени при НАЖБП [41, 82, 263].

Важную роль в патогенезе НАЖБП играет АроЕ – основной компонент липопротеинов низкой плотности. В эксперименте на мышах дефицит АроЕ способствовал сниженной восприимчивости к развитию ожирения и возникновению НАЖБП [76]. Различают 3 варианта гена АроЕ: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ и $\epsilon 4$. Аллель АроЕ $\epsilon 3$ преобладал у пациентов с НАСГ по сравнению со здоровыми людьми, был значительно ассоциирован с повышенным риском развития стеатогепатита при НАЖБП, а наличие аллеля АроЕ $\epsilon 2$ было расценено как протективный фактор при НАЖБП [49].

Предполагают, что вариант гена rs5186 рецептора ангиотензина II типа 1 (A1166C или же rs5186A>C) предрасполагает возникновение НАЖБП и ассоциированной с ней артериальной гипертензии, а также с неалкогольным стеатогепатитом, фиброзом, дислипидемией, эндотелиальной дисфункцией и инсулинорезистентностью [39, 75]. Вероятно, это объяснялось тем, что вариант AGTR1 A1166C может модулировать синтез адипокинов, хемокинов и активацию провоспалительных клеток в ответ на прием жиров. При этом авторы исследования отмечают, что, несмотря на предыдущие неудачные клинические испытания блокаторов рецепторов ангиотензина при НАСГ, люди с вариантом rs5186A>C могут иметь большую пользу от этой терапии.

Большое значение в механизмах развития НАСГ имеет окислительный стресс. Марганец-зависимая супероксиддисмутаза, кодируемая геном SOD2, играет важную роль в защите клеток от продуктов окислительного стресса, осуществляя протекцию от генерируемых супероксидов путем детоксикации их в кислород и перекись водорода. Носительство полиморфизма SOD2

C47T ассоциировалось с наиболее выраженными стадиями фиброза при неалкогольном стеатогепатите [3, 281].

Известно, что полиморфизм G238A rs361525 важного провоспалительного цитокина TNF- α связан с предрасположенностью к НАЖБП и ее прогрессированию. Частота аллеля А была достоверно выше у больных НАЖБП по сравнению с группой контроля [50, 219].

При ожирении и сопутствующем ему нарушении пищевого поведения особое значение приобретает генетический полиморфизмы генов адипокинов. Так, ПЕН адипонектина 45ТТ и 276GT были значительно более распространены в НАЖБП, чем в общей популяции. Эти полиморфизмы были связаны с тяжестью заболевания печени и с атерогенным постпрандиальным липопротеиновым профилем при НАСГ независимо от уровня натошак адипокина и липидов [33].

1.4. Лептин, его продукция в организме и физиологическое значение

Лептин относится к адипокинам, вырабатываемым жировой тканью. Он является сигналом для отрицательной обратной связи с центральной нервной системой, и способен, тем самым, регулировать аппетит, обмен веществ и половое созревание [150, 184, 196, 273, 282]. Этот адипокин был открыт еще в 1950 г., когда был найден мутантный штамм мышей (ob/ob) с характерным выраженным ожирением, низкими показателями основного обмена и термогенеза и малоподвижностью [142]. Далее в 1973 г. обнаружили, что скрещивание мышей ob/ob с животными дикого типа вело к нормализации массы тела и обмена веществ в их потомстве, что позволило предположить, что в основе развитие ожирения лежат некоторые генетические факторы, а также наличие циркулирующего фактора насыщения [13, 67]. Позже был идентифицировали ген ob, ответственный за развитие ожирения у мы-

шей *ob* /*ob* [291], а его продукт впоследствии был назван лептином, от греческого слова «лептос» (тонкий).

Лептин является протеином с молекулярной массой 16 кДа, состоящим из 167 аминокислот [51]. Ген лептина человека (он же *Ob-gene*) локализуется на 7q31.3 хромосоме, состоит из трех экзонов, разделенных двумя интронами. Он экспрессируется в основном в белой жировой ткани, желудке, плаценте и в тканях молочной железы [134]. Лептин синтезируется преимущественно белой жировой тканью, представляя собой сигнал для центральной нервной системы о запасах энергии организма. Немного лептина вырабатывают и иные ткани: костный мозг, лимфоидная ткань, плацента, яичники, и желудок [173, 183]. Лептин контролирует объем жировой ткани и массу тела, уменьшая потребление пищи и повышая термогенез [250]. Секреция лептина зависит и от гормонального влияния – адипокин чувствителен к инсулину, глюкокортикоидам и уровню самого лептина [173]. Количество секретируемого лептина пропорционально количеству белой жировой ткани, адипокин циркулирует в крови либо в свободной форме, либо связанной с белками [121]. Лептин играет значительную роль в регуляции энергетического гомеостаза, обмена глюкозы и липидов, репродукции и нейроэндокринных функций [157, 184, 253]. ФОС-подобный антиген 2, ключевой фактор транскрипции, регулирует продукцию лептина в адипоцитах [104].

Эффекты лептина на периферии реализуются путем взаимодействия со специфическими трансмембранными рецепторами [290]. Ген рецептора лептина *LEPR* находится на коротком плече 1 хромосомы (1p31) и кодирует синтез всех видов рецепторов лептина [152]. *LEPR* – представитель семейства цитокиновых рецепторов класса 1, включающее также рецепторы ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, LIF (лейкемию ингибирующий фактор), GCSF, гликопротеина-130 и другие [159, 173]. *Lep-R* имеет внеклеточную часть, трансмембранную часть и внутриклеточную часть [128, 260]. Один ген *LEPR* производит шесть изоформ *Lep-r* (a, b, c, d, e и f) с помощью альтернативного сплайсинга мРНК [38, 174, 193]. Выделяют соответственно шесть изоформ рецепторов лептина

(ObRa - ObRf), которые экспрессируются в центральной нервной системе и в других периферических тканях. Все изоформы Ob-R имеют аналогичный внеклеточный лиганд-связывающий домен, расположенный в N-конце белка [36, 77, 133, 164].

Лептин реализует свое биологическое действие путем связывания и активации длинной формы рецептора лептина, который широко экспрессируется во многих областях головного мозга [116, 168]. Lep-Rb – изоформа рецептора, имеющая длинный цитоплазматический домен и способная передавать гормональный сигнал. Lep-Rb не проявляет активность, свойственную ферментам, но связывается с цитоплазматической тирозинкиназой, которая называется Янус-киназой 2 (JAK2) [164, 260, 269]. Lep-Rb имеет большой внеклеточный домен, короткий гидрофобный трансмембранный домен и короткую внутриклеточную последовательность, которая, в свою очередь, содержит две последовательности для взаимодействия с JAK2. Лептин стимулирует активацию JAK2, которая впоследствии аутофосфорилируется на множество тирозинов [31, 108]. JAK2 также фосфорилирует LepRb на три остатка тирозина: Tyr 985, Tyr 1077 и Tyr1138, которые служат для связывания добавочных сигнальных молекул, содержащих участки Src гомологии 2 (SH2), и прикрепляют эти молекулы к LepRb-JAK2 комплексу, чтобы сделать возможным для JAK2 фосфорилирование этих эффекторных белков. Помимо JAK2, члены семейства Src тирозинкиназы также связываются с лептином независимо от JAK2 [31, 99, 175, 218, 241, 274].

В печени лептин, действуя через свой рецептор LepRb, снижает экспрессию SREBP-1 [171]. В свою очередь SREBP-1 регулирует гены, необходимые для метаболизма глюкозы, производства жирных кислот и липидов [101].

Помимо трансмембранных рецепторов имеется также растворимая форма рецептора лептина или растворимый рецептор лептина (Ob-R или он же sLep-R). Принято считать, что sLep-R – итог альтернативного транскрипционного сплайсинга гена или результат трансмембранной деструкции

рецепторов Ob-R [79]. Растворимый рецептор является основным лептин-связывающим белком, формирующим комплексы с циркулирующим лептином, а баланс между свободным лептином и его связанной формой определяет его биодоступность [252].

Соотношение лептин - рецептор лептина является важным регулятором пищевого поведения, расхода энергии, строения тела, и гомеостаза глюкозы. Дефицит лептина у LEP ob / ob мышей или рецептора лептина Lep^r db / db мышей, Lep^r fa/ fa крыс приводят к ожирению и у людей, и у грызунов из-за повышения аппетита, гиподинамии, предпочтительного расходования калорий для построения жировой ткани [183, 211, 288].

1.5. Лептин и его рецепторы при ожирении и другой патологии

Предполагается, что центральная нервная система, в частности, гипоталамус, является главной мишенью действия лептина и опосредует его действие против ожирения [106, 254]. Лептин, по-видимому, играет важную роль в адекватном функционировании гипоталамо-гипофизарной системы. Это наблюдается у пациентов с врожденным дефицитом лептина, которые обычно бесплодны [54]. Этот факт хорошо прослеживается на примере больных с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ). Лептин стимулирует секрецию лютеинизирующего гормона [79] и оказывает непосредственное влияние на всех клетки яичников, регулируя фолликулогенез [58]. При этом трактовка роли лептина в патогенезе СПКЯ противоречива. Так, некоторые исследователи рассматривали гиперлептинемия как следствие этого состояния, поскольку выявлялась корреляция уровня лептина с массой тела [183]. С другой стороны, есть данные о связи уровней лептина и эстрадиола при СПКЯ, при этом корреляция эстрадиола и лептина не зависела от массы тела [225]. Гиперлептинемия у женщин с СПКЯ, по-видимому, обусловлена положительной корреляцией между сывороточным лептином, ИМТ и инсулином [61]. Кроме того, неоднократно сообщалось о повышении уровня лептина в крови

у пациенток с СПКЯ без ожирения [249]. У тучных женщин с СПКЯ следствием гиперлептинемии может быть низкий уровень растворимого рецептора лептина [344]. У женщин с синдромом поликистозных яичников лептинорезистентность приводит не только к формированию недостаточного сигнала для секреции лютеинизирующего гормона [154], но и к повышению аппетита, что в итоге может приводить к ожирению [141].

Связь гиперлептинемии с ожирением у человека достаточно давно известна. В США на примере пациентов с морбидным ожирением и их родственников было показано, что изменение уровня лептина в плазме крови на 63% зависит от индекса массы тела и пола. Лептинорезистентность чаще всего выявлялась у пациентов с морбидным ожирением и реже у пациентов с нормальной массой тела [150]. Позже в другом масштабном исследовании, проведенном в Китае, определяли уровень лептина в сыворотке крови у 1234 пациентов (572 мужчин и 662 женщин). Сывороточные уровни лептина среди пациентов с инсулинорезистентностью оказались почти в два раза выше, чем у больных без инсулинорезистентности. Была выявлена связь между величиной индекса НОМА и концентрацией сывороточного лептина у китайских мужчин и женщин независимо от степени ожирения, что говорило о том, что концентрация в сыворотке крови лептина является важным прогностическим фактором инсулинорезистентности [45].

Имеются данные о том, что экспрессия мРНК лептина и иммуноштейнинг в печени оставались стабильными после шести месяцев массивной потери веса [90]. Это, однако, не исключает того, что внепеченочные источники ответственны за иногда наблюдаемое снижение уровня лептина в сыворотке крови после бариатрической операции [222].

1.5.1. Лептинорезистентность

Во многих исследованиях было показано, что при ожирении у человека имеет место гиперлептинемия и лептинорезистентность. Под лептинорези-

стентностью понимают невозможность эндогенного или экзогенного лептина стимулировать предвидимые его благоприятные метаболические эффекты при наличии у пациентов избыточного питания или ожирения. При этом неспособность гормонов стимулировать желаемые реакции в конкретных ситуациях является результатом множественных молекулярных, нейронных, поведенческих и экологических механизмов. Поэтому термин «лептинорезистентность» не подразумевает какого-то одного конкретного механизма, а скорее означает результат различных состояний [77]. Есть несколько теорий возникновения ЛР. Предполагаются изменения структуры гена LEPR вследствие мутаций, затруднение транспорта лептина через гематоэнцефалический барьер, дисфункция рецепторов лептина и механизмов передачи лептинового сигнала внутри клетки [13, 103, 165, 166].

Harris R.B. с соавт. ещё в 1998 г. показали возможность лептина корректировать различные лептин-дефицитные состояния у мышей *ob/ob*. Введение лептина дозозависимо приводило к снижению потребления пищи и массы тела, а также к повышению концентрации серотонина в гипоталамусе и стволе головного мозга [25]. Позже японские исследователи продемонстрировали, что инфузия лептина может уменьшить печеночный стеатоз и снизить гиперинсулинемию за счет снижения синтеза триглицеридов в печени и повышения чувствительности к инсулину у мышей с экспериментальной моделью липодистрофии [86].

Однако в ряде исследований было доказано, что при лечении ожирения у человека, введение лептина не приводит к потере веса без низкокалорийной диеты. При возникновении и прогрессирования ожирения, часто происходит ослабление чувствительности к лептину, что не позволяет эффективности заместительной терапии лептином преодолеть ожирение и / или сопутствующие заболевания [92, 151, 240].

При терапии рекомбинантным лептином человека потеря веса наблюдается только у пациентов с врождённым дефицитом лептина. Мутации в гене, кодирующем лептин, как правило, приводят к отсутствию циркулиру-

ющего лептина и к крайнему ожирению. M. Wabitsch и соавт. описывали 2-летнего мальчика с ранним началом экстремального ожирения из-за гомозиготной трансверсии (с.298G→T) в LEP, приводящей к высоким уровням лептина. Мутантный белок секретировался, но не связывался и не активировал рецептор лептина. Лечение пациента рекомбинантным человеческим лептином (метрелептином) быстро нормализовало пищевое поведение и привело к снижению веса [55].

Доказано в эксперименте на животных, что на фоне возрастающей гиперлептинемии, транспортировка лептина через гематоэнцефалический барьер начинает снижаться [166]. Было предположено, что ограниченный транспорт через ГЭБ гарантирует, что стимулирующие эффекты периферического лептина не будут ограничены анорексигенными действиями гормона, опосредованными ЦНС. Сам лептин имеет важное значение в формировании лептинорезистентности, при этом данное его свойство определяется как «лептин-индуцированной резистентностью к лептину» [165]. Появление у больного резистентности к лептину повышает риск развития ожирения, индуцированного перекармливанием, что приводит к дальнейшему росту концентрации лептина и нарастанию существующей резистентности, создавая порочный круг.

Употребление продуктов с высоким содержанием сахара и насыщенных жиров является решающим фактором, вызывающим рост ожирения и связанных с ним заболеваний. Сообщалось, что именно эти особенности питания вызывают воспалительную реакцию в гипоталамусе, которая способствует развитию центральной резистентности к лептину и ожирению [74, 279]. Эта передача воспалительных сигналов включает динамические изменения в экспрессии и активности некоторых медиаторов, включая toll-подобный рецептор 4, ИкВ киназу- β / ядерный фактор κ B, c-Jun N-концевую киназу, супрессор передачи сигналов цитокинов 3 и провоспалительные цитокины, а также индукцию стресса эндоплазматического ретикулума и дефекта аутофагии. Последние данные свидетельствуют о том, что воспали-

тельный ответ опосредован взаимодействиями между нейронами и ненеи-ронными клетками, такими как микроглия и астроциты.

Известно, что лимфоидная и жировая ткани взаимодействуют через общие медиаторы адипокины, продуцируемые адипоцитами и объединяющие метаболизм и иммунный гомеостаз. У экспериментальных животных диета с высоким содержанием жира индуцировала воспаление в периферических тканях (преимущественно в жировой ткани и печени), что приводило к повышенной продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и TNF- α) [89]. Интересно отметить, что лептин также можно охарактеризовать и как провоспалительный цитокин, который относится к семейству длинноцепочечных спиральных цитокинов, структурно похожим на интерлейкины 6, 12, 15, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор и другие. Лептину присуща двойственная природа, так как он является и гормоном, и цитокином, что позволяет ему связывать нейроэндокринную и иммунную системы. В ряде исследований лептин рассматривается как воспалительный белок острой фазы, подобный С-реактивному протеину, ИЛ-1 и ИЛ-6, продуцируемыми в высоких концентрациях во время сепсиса и лихорадки [93, 165].

1.5.2. Лептин и полиморфизм его рецептора при неалкогольной жировой болезни печени

Ожирение и инсулинорезистентность являются наиболее доказанными причинными факторами при НАЖБП, однако о роли лептина в патогенезе НАЖБП, уровнях в крови больных лептина и его растворимого рецептора имеются достаточно противоречивые сообщения [32, 65].

Результаты мета-анализа 33 исследований, выполненного А.Т. Polyzos с соавт., привели к заключению, что у пациентов с НАЖБП имеется повышение циркулирующего лептина сравнительно со здоровыми людьми, однако отмечается определенная разнородность результатов разных авторов [65]. При этом наиболее высокие уровни лептина были связаны с нарастанием тя-

жести НАЖБП, и эта ассоциация оставалась значимой после исключения исследований, проведенных на детской и подростковой популяции, а также лиц, перенесших бариатрическую хирургию.

Было продемонстрировано, что уровень лептина у больных НАЖБП напрямую коррелировал с тяжестью печеночного стеатоза, но не с уровнями воспаления или фиброза [247]. В другом исследовании были получены данные, что содержание лептина в сыворотке крови и экспрессия мРНК рецептора лептина в печени статистически не различались между больными с неалкогольным стеатогепатитом и лицами, имеющими простой стеатоз [265]. Концентрация лептина в сыворотке крови была сравнительно выше при НАСГ по сравнению с показателями здоровых лиц. Это повышение не было пропорционально ИМТ пациентов и в большинстве случаев могло быть связано с гиперлипидемией [248]. Повышенные уровни лептина при НАСГ сравнительно со здоровыми находили и другие исследователи [155, 178].

Angulo P. и соавт. показали, что при НАЖБП уровень лептина был значительно выше у пациентов с более выраженным фиброзом. Однако только возраст и чувствительность к инсулину достоверно коррелировали со стадией фиброза. Выполненная в динамике повторная биопсия выявила, что содержание в крови лептина у пациентов, имевших прогрессирование фиброза, и у пациентов без прогрессирования фиброза существенно не различалось. Авторы сделали выводы, что корреляция уровня лептина и выраженности фиброза, по-видимому, является показателем факторов, определяющих продукцию лептина [170].

В 3-летнем проспективном исследовании с парными биопсиями было продемонстрировано, что у пациентов со стабильным или улучшающимся течением заболевания наблюдалось более выраженное снижение циркулирующего лептина (-5,8 нг/мл) по сравнению с пациентами с прогрессированием заболевания (-2,2 нг/мл). Тем не менее, многомерный анализ показал, что только увеличение ИМТ оставалось независимым фактором, связанным с прогрессированием заболевания [80]. В другом 7-летнем проспективном ис-

следовании пациенты, не имеющие НАЖБП исходно и у которых развилась жировая болезнь печени в последующие 7 лет, имели более высокие исходные концентрации лептина по сравнению с лицами, у которых и далее не диагностировали НАЖБП [226].

Не было обнаружено связи при НАЖБП между уровнем лептина в сыворотке крови, уровнем инсулина натощак и показателями окислительного стресса [158].

Основной лептин-связывающий белок sLep-R способен связывать циркулирующие свободные фракции лептина и регулировать его биодоступность [194, 222]. Увеличение показателя отношения уровней циркулирующего лептина к его растворимому рецептору (он же индекс свободного лептина) является критерием наличия лептинорезистентности [52, 112]. Было показано, что лептинорезистентность характерна в большей степени для больных с НАЖБП сравнительно с пациентами, которые при наличии ожирения не имели признаков стеатоза печени [52]. При этом в крови пациентов с НАЖБП содержание sLep-R было значительно ниже, чем у здоровых лиц [52].

Была отмечена сниженная циркулирующая фракция sLep-R, у больных НАЖБП по сравнению с контролем [259]. Растворимый Lep-R также определялся пониженным у пациентов с НАЖБП [245]. В обоих исследованиях циркулирующие уровни лептина имели обратную корреляцию с уровнем sLep-R. В то же время, некоторые другие исследователи сообщали, что при НАЖБП уровни sLep-R положительно коррелировали со стадией фиброза печени [140, 169].

Есть мнение, что мутации в генах лептина и его рецептора могут приводить к гиперлептинемии и лептинорезистентности. Считается, что на сегодняшний день наиболее часто встречающейся мутацией гена LEPR является единичная нуклеотидная замена аденина на гуанин в 668 позиции (A668G, rs1137101), приводящая соответственно к замене глутамина на аргинин в 223

положении в протеине (Gln223Arg или Q223R). Этот полиморфизм ведет к нарушениям функциональных особенностей рецептора.

Сообщалось, что олигонуклеотидная замена в гене LEPR может становиться фактором риска возникновения жировой болезни печени, а также патологии коронарных артерий [121]. Полиморфизм rs1137101 LEPR ассоциировался с увеличением содержания в крови общего холестерина, ХсЛПНП и снижением ХсЛПНП в популяции японских мужчин [163].

Литературные данные о вариантах распространенности данного ПЕН достаточно противоречивы. Результаты разных исследований свидетельствуют, что доля аллеля Arg в европейских популяциях колеблется от 32% до 58% [22]. Варьируют и сведения о распространенности ПЕН Gln223Arg в случаях ожирения, метаболического синдрома и НАЖБП. Исследование, проведенное на жителях Санкт-Петербурга, выявило, что аллель Arg присутствовал у 44% лиц с ожирением против 40% наличия в общей популяции [21]. Гомозиготный генотип Arg223Arg чаще встречался у больных с ожирением и избыточной массой тела, чем у людей с нормальной массой [277]. Но были получены и обратные данные другими исследователями. Так при наличии биаллельной мутации с генотипом Gln223Gln и при гетерозиготном генотипе Gln223Arg имелся повышенный риск развития МС [46]. Аллель Arg демонстрировал «защитное» действие относительно риска развития ожирения у жителей Тихоокеанских островов [276].

В нашей стране, по данным А.В. Морозовой и соавт., наличие аллеля 223Gln способно предрасполагать к развитию НАЖБП даже в случаях отсутствия ожирения, и это, по мнению авторов, больше свойственно женщинам [10]. Частоты встречаемости аллеля 223Gln в гомозиготном состоянии составили 48,67% в случаях НАЖБП и только 21,17% в здоровых контрольных группах [291].

Известно, что жировая болезнь печени может стать причиной развития ГЦК. В свете этих данных особенно важным представляются результаты исследований египетских авторов, показавших, что полиморфизм LEPR

Gln223Arg можно рассматривать как вероятный генетический предиктор развития ГЦК [272].

В то же время данные о взаимосвязи полиморфизма Gln223Arg LEPR с содержанием в крови лептина и его циркулирующего рецептора при НАЖБП ограничены. Уточнение влияния ПЕН Gln223Arg LEPR на изменение синтеза лептина и sLepr-R у пациентов с НАЖБП и сопутствующим ожирением будет иметь важное клиническое значение для понимания патогенеза лептинорезистентности и поиска новых биомаркеров жировой болезни печени.

1.6. Полиморфизм гена FTO при ожирении и неалкогольной жировой болезни печени

Ген FTO (fat mass and obesity associated) кодирует альфа-кетоглутаратзависимую диоксигеназу, обладающую широкой сферой компетенций, имеющих важное значение для функционирования организма [72, 275]. В ряде исследований на животных было показано, что экспрессия FTO происходит в гипоталамусе, преимущественно в дугообразных, паравентрикулярных, дорсомедиальных и вентромедиальных ядрах, которые являются ключевыми областями мозга, контролирующими аппетит [233, 275]. Хотя варианты в гене FTO однозначно связаны с ожирением и диабетом 2-го типа, биологическая функция самого FTO до конца не изучена [190]. FTO относится к суперсемейству Fe (II)- и 2- оксоглутаратзависимых диоксигеназ и играет роль в деметилировании РНК и одноцепочечных ДНК [72, 275]. Было показано, что трансфицированный FTO локализуется в ядре [208, 275]. Эти биологические свойства гена предполагают возможность того, что FTO может регулировать экспрессию генов путем модификации состояний метилирования–деметилирования генов. Поэтому предполагается, что FTO играет определенную роль в регуляции метаболизма, возможно, изменяя экспрессию генов в метаболически активных тканях.

Гомозиготная мутация гена FTO с потерей функции у человека вызывает тяжелую задержку роста и задерживает развитие центральной нервной системы, не вызывая каких-либо явных фенотипических изменений в метаболизме [180]. Гетерозиготные мутации потери функции в гене FTO были обнаружены как у худых, так и у тучных людей [228]. Более того, исследования показали, что уровень мРНК FTO либо не изменяется в жировой ткани, либо повышается в клетках периферической крови у лиц с аллелями риска ожирения FTO по сравнению с лицами, не имеющими аллелей риска [26]. Таким образом, вполне вероятно, что ожирение фенотипа у лиц, несущих аллели риска FTO, происходит не из-за потери функции самого FTO, а скорее из-за изменений функции FTO и/или экспрессии или функции других генов, экспрессия которых может быть изменена вариантами FTO.

В эксперименте мыши с дефицитом FTO демонстрируют тяжелую задержку роста [138]. Дефицит FTO или частичная потеря функции в результате мутаций в гене FTO ассоциированы со снижением ожирения, в то время как повышенная экспрессия FTO приводит к увеличению ожирения и массы тела у мышей [138, 208]. Полное же отсутствие FTO улучшало толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину у мышей, что позволило предположить возможную роль FTO в регуляции гомеостаза глюкозы [35, 138]. Поскольку печень играет важную роль в углеводном и липидном обмене, предполагалось, что печеночный FTO участвует в регуляции обмена веществ.

Если печеночный FTO играет определенную роль в регуляции метаболизма, то и сама экспрессия FTO в печени может изменяться в ответ на изменения метаболического состояния организма. Уровни мРНК FTO в печени повышаются натощак без существенного изменения уровня ее белка и снижаются при лечении глюкозой у мышей [223, 267]. Экспериментальные исследования подтверждают это предположение, демонстрируя, что повышенная экспрессия FTO стимулирует экспрессию глюконеогенного гена и белка в клетках фибробластов куриных эмбрионов DF-1, клетках печени человека HuH7 и клетках печени мыши AML12 [96, 109, 198, 285]. Отсутствие FTO

способствовало нормализации гликемии и улучшало толерантность к глюкозе у здоровых мышей, а также у мышей с ожирением или с диабетом [35, 138].

Вероятно, что FTO участвует в регуляции экспрессии глюконеогенных генов путем изменения активности и взаимодействия с транскрипционными факторами, такими как STAT3 и C/EBP- β . Кроме того, FTO положительно регулирует другой транскрипционный фактор, активирующий транскрипционный фактор 4 (ATF4). ATF4 является положительным регулятором экспрессии глюконеогенных генов G6PC и PCK1 и увеличивает выработку глюкозы в первичных гепатоцитах мыши [189]. Уровень белка ATF4 повышен в печени трансгенных мышей с печеночно-специфичным FTO [195]. Эти данные подтверждают роль печеночного FTO в регуляции глюконеогенеза через транскрипционную регуляцию экспрессии глюконеогенных генов. Поскольку FTO функционирует как деметилаза, возможно предположить, что FTO играет определенную роль в регуляции экспрессии глюконеогенных генов на посттранскрипционном и трансляционном уровнях [190].

Данные литературы последних лет свидетельствуют, что печеночный FTO связан с липидным обменом. Экспрессия FTO в печени коррелирует с экспрессией генов, участвующих в липидном обмене, таких как липогенез и окисление жирных кислот у крыс [60]. Сверхэкспрессия FTO приводит к увеличению накопления липидов в клетках печени человека L02 и HepG2 [97, 113]. Далее повышенный липополисахарид при НАЖБП индуцирует воспаление и приводит к нарушению липидного обмена печени [190]. В эксперименте диета с высоким содержанием жиров вызывает увеличение экспрессии липогенных генов (ацетил-КоА-карбоксилаза 1, ACC1 и синтаза жирных кислот, FASN) и снижение экспрессии липолитических генов (гормонально чувствительная липаза, LIPE и жировая триглицеридная липаза, ATGL) в печени мышей. Эти изменения сопровождались повышением уровня печеночного FTO и снижением уровня метиладенозина в мРНК (FTO функционирует как деметилаза для N⁶- метиладенозина) [115]. Эти данные свидетельствуют

о возможности печеночного FTO играть важную роль в регуляции липидного обмена, изменяя статус модификации N⁶-метиладенозина и экспрессии генов, связанных с липидным обменом в печени.

Полиморфизмы гена FTO, являются мощными генетическими факторами, предрасполагающими к развитию ожирения [69, 114]. Ряд клинических исследований доказывает связь полиморфизмов rs9939609, rs1121980, rs1121980 с развитием ожирения. Генетическая изменчивость в локусе FTO вносит значительный вклад в этиологию ожирения, развитие ИР и увеличение содержания лептина в крови [123]. Лица, имеющие биаллельную мутацию, демонстрировали избыточную массу тела или ожирение, гипергликемию натощак по сравнению с лицами, гомозиготными по аллелю низкого риска [139]. Увеличение индекса массы тела у носителей rs9939609 начинается, как правило, в молодом возрасте и сохраняется на протяжении всей жизни, согласно исследованию, проведенному среди семей Юты [132]. Многочисленные исследования подтверждали связь гена FTO с ожирением в европейских популяциях [114, 124, 284]. Существует достаточно доказательств, что FTO связан с ожирением и в других популяциях [69, 102, 111, 186, 268]. В белых же популяциях, люди, которые являются гомозиготными по аллелю rs9939609, имеют риск заболеть ожирением в 1,7 раза выше среднего риска популяции.

Мета-анализ исследований, проведенных в Китае, также показал сильную связь между четырьмя ПЕН FTO (rs9939609, rs6499640, rs8050136 и rs1558902) и риском ожирения. Кроме того, анализ подгрупп, стратифицированных по группам детей/подростков и взрослых, показал ту же тенденцию. Был сделан вывод, что полиморфизмы гена FTO ассоциированы с риском ожирения как у детей/подростков, так и у взрослых в китайской популяции [110].

В исследование полиморфизма гена FTO rs9939609 на 425 чел. из разных регионов Центральной России было доказано, что AA генотип ассоциирован с абдоминальным ожирением, с гипергликемией, артериальной гипер-

тензией, увеличением окружности талии и массы тела в сравнении с носителями генотипов ТА и ТТ генотипами [5]. А.А. Насибулина и соавт. продемонстрировали, что наличие генотипа АА гена FTO rs9939609 увеличивало риск развития ожирения в 2,4 раза. Авторы пришли к выводу о связи Т/А полиморфизма гена FTO с риском развития ожирения [2].

В ряде исследований обнаружено, что физическая нагрузка может ослабить эффекты FTO. Физически активные взрослые имеют на 33% меньше шансов развития ожирения, на 19% меньше шансов развития избыточной массы тела, имеют ОТ на 2,44 см меньше, а также на 1,3% ниже содержание жира в организме, чем физически неактивные взрослые. Степень влияния минорного аллеля А гена FTO на развитие ожирения и избыточной массы тела на 27% меньше у генетически предрасположенных физически активных взрослых, по сравнению с физически неактивными [217].

Была выявлена связь между геном FTO и сахарным диабетом 2-го типа в европейской популяции [24]. Однако связь между FTO и сахарным диабетом утрачивалась после коррекции данных с учетом ИМТ. Это позволило сделать вывод, что FTO-опосредованная восприимчивость к сахарному диабету 2-го типа связана с ожирением. Значимая ассоциация минорного аллеля А FTO rs9939609 и риска сахарного диабета 2-го типа наблюдалась в исследовании, проведенном среди населения Палестины, эта ассоциация частично ослаблялась при поправке на ИМТ [68].

В то же время значение полиморфизма гена FTO в развитии НАЖБП и особенно стеатогепатита изучена недостаточно. Экспрессия FTO повышена в печени пациентов с НАЖБП и животных моделях НАЖБП [37, 130]. В эксперименте на клетках печени человека было показано, что отсутствие генетического влияния FTO защищает от индуцированного пальмитатом окислительного стресса, митохондриальной дисфункции, окислительного стресса и апоптоза *in vitro* [130]. На основании полученных результатов был сделан вывод, что ген FTO может играть негативную роль в гепатоцитах при липо-

токсических состояниях, а повышенная экспрессия FTO может способствовать усилению повреждения печени при НАСГ.

В исследовании, проведенном на китайской мужской популяции, ген FTO был связан с наличием и тяжестью НАЖБП, а доказанная зависимость 9 тестируемых ПЕН с НАЖБП, по мнению авторов, скорее всего, была опосредована ожирением [235]. Уровень экспрессии FTO в сыворотке крови в группе пациентов с НАЖБП значительно превышал значения контрольной группы. Кроме того, показатель экспрессии FTO у пациентов с НАСГ был намного выше, чем у больных с простым стеатозом печени, и положительно коррелировал с ИМТ в группе стеатоза и общим холестерином в группе стеатогепатита. Аналогично уровень экспрессии FTO в печени в группе пациентов с НАЖБП был намного выше сравнительно с группой контроля, а также значительно увеличился в группе НАСГ по сравнению с группой стеатоза [37].

У ВИЧ-инфицированных пациентов три ПЕН (rs8050136, rs9939609 и rs9940128) были связаны с жировой болезнью печени, причем rs9940128 показал самую сильную ассоциацию. Этот полиморфизм также показал ассоциацию с НАЖБП в валидационной выборке. Был сделан вывод, что вариации гена FTO могут быть предикторами НАЖБП у ВИЧ-инфицированных пациентов независимо от метаболических факторов [98].

1.7. Принципы лечения пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени

Лечение НАЖБП заключается главным образом в изменении образа жизни и питания, что может быть одним из ключевых моментов при лечении пациентов с НАЖБП. Потеря веса снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и диабета, а также может способствовать регрессии заболеваний печени [239].

Модификация образа жизни должна обязательно включать адекватные физические нагрузки. Уровень физической активности обратно пропорцио-

нален увеличению массы тела и ожирению. Наличие физических упражнений приводит к умеренному снижению массы тела даже при отсутствии ограничения потребления пищи. Более того, физическая нагрузка обеспечивает долгосрочную потерю веса. Таким образом, включение физических упражнений в свой образ жизни способствует поддержанию нормальной массы тела [238]. Недавние исследования показали, что 1 год гипокалорийной (750 ккал/день) диеты в сочетании с 200 минутами физических упражнений в неделю оказывает дозозависимое влияние на потерю веса и приводит к улучшению показателей НАСГ, включая уровень фиброза [286].

Диетические же рекомендации имеют особое ключевое значение. Считают, что можно в принципе добиться регрессии НАЖБП, но это возможно только при снижении веса не менее чем на 3-5% [287]. Снижение массы тела на 10% практически всегда снижает активность стеатогепатита и улучшает показатели фиброза как минимум на одну стадию. Тем не менее, даже небольшое снижение веса (>5%) также может улучшить состояние печени при НАЖБП. Кроме того, необходим подсчет суточной калорийности, соблюдение принципов сбалансированности диеты, наличия необходимых микро- и макроэлементов в рационе питания [239]. Мнения о принципах диеты при НАЖБП разноречивы.

Эпидемиологические исследования показывают корреляцию между высокоуглеводной диетой и НАЖБП. Диета с высоким содержанием сахаров, таких как фруктоза или сахароза, увеличивает риск развития НАЖБП. Излишнее потребление углеводов и, как следствие, повышенный уровень глюкозы в крови оказывают пагубное воздействие на клетки, это явление называется глюкотоксичностью. Эта концепция неразрывно связана с ИР в печени, проявляющейся повышением глюконеогенеза и снижением гликогенеза, приводящими к гипергликемии [53, 56, 107].

Недавнее исследование показало, что диета, обогащенная насыщенными жирами, более вредна для повышения внутрипеченочного содержания ТГ, чем диета, обогащенная свободными сахарами у мужчин с избыточным ве-

сом [143]. На молекулярном уровне липотоксичность приводит к стрессу эндоплазматического ретикула, лизосомальной дисфункции, гибели клеток и активации воспалительных реакций вследствие летального и сублетального повреждения печеночных клеток.

Идеальным препаратом для лечения НАЖБП был бы препарат, который нацелен на уменьшение отложения жира в печени, обладает противовоспалительными и антифибротическими свойствами, а также снижает сердечно-сосудистый риск, который является наиболее частой причиной смертности при жировой болезни печени [70, 85, 146]. В настоящее время в медикаментозной терапии основное внимание принято уделять гиполипидемическим препаратам, инсулиновым сенситайзерам, а также препаратам с возможным гепатопротективным эффектом.

Растет клинический интерес к применению статинов при ряде хронических заболеваний, выходящих за рамки их традиционных показаний при сердечно-сосудистых заболеваниях. Ретроспективные когортные исследования в больших популяциях пациентов с циррозом печени и предцирротическими состояниями показали, что лечение статинами с целью снижения высокого уровня холестерина было связано со снижением риска прогрессирования заболевания, декомпенсации печени, развития гепатоцеллюлярной карциномы и смерти [256, 257]. Статины обладают противовоспалительными, противofiбротическими и регенерирующими свойствами, что делает их возможным терапевтическим средством при хронических заболеваниях печени. Когортные исследования и небольшие РКИ предоставляют все больше доказательств того, что статины безопасны и потенциально полезны для пациентов как с предцирротическими состояниями, так и с циррозом печени [57, 258]. Применение статинов приводило к уменьшению выраженности печеночного стеатоза и выраженности лобулярного воспаления, но не было связано с изменением выраженности портального воспаления, баллонной дистрофии гепатоцитов и выраженности фиброза [185].

Метформин – препарат, который относится к инсулиновым сенситайзерам. Он не доказал свою эффективность в качестве терапии НАСГ у человека, но в эксперименте у мышей был способен повышать экспрессию рецепторов лептина одновременно со снижением уровня печеночных триглицеридов [188]. А у больных сахарным диабетом 2-го типа после лечения метформином наблюдалось повышение уровня растворимых рецепторов лептина.

Возможность гепатопротективного воздействия медикаментов при НАЖБП подвергается сомнениям из-за достаточно сложного и многопланового патогенеза заболевания. Однако ряд препаратов все-таки представляется перспективным. В эксперименте урсодезоксихолевая кислота оказывала благоприятное влияние на стеатоз печени у крыс с НАЖБП, что связано с ингибированием апоптоза и индукцией аутофагии путем воздействия на комплекс Bcl-2/ Bcl-1 и взаимодействие комплекса Bcl-2/Bax через активацию AMP-активированной протеинкиназы, что указывает на то, что УДХК может быть перспективной терапевтической мишенью для НАЖБП [283]. В российском многоцентровом исследовании «Гепард» препарат «Фосфоглив», включающий в себя комбинацию глицирризиновой кислоты и фосфолипидов, продемонстрировал снижение активности стеатогепатита, замедление темпов прогрессирования фиброза, а также показал значительную удовлетворенность пациентов при хорошем профиле безопасности [18].

Ведется активный поиск новых препаратов для лечения НАСГ. Недавнее клиническое исследование показало значительное улучшение уровня АлАТ в сыворотке крови в течение 12 недель при использовании нор-УДХК по 1500 мг в сутки по сравнению с плацебо [206]. Продолжаются клинические исследования с арамхолом, ценикривироком, элафибранором, обетихоловой кислотой, альдафермином и другими [28, 29, 63, 85, 91, 231, 237].

Особенно перспективным направлением является возможное использование в терапии НАЖБП ингибиторов GLP-1. Лираглутид является агонистом человеческого инкретина (GLP-1). Лираглутид улучшал толерантность к глюкозе, снижал индекс массы тела, уровень триглицеридов и накопление

жира в печени. Препарат повышал чувствительность печени и жировой ткани к инсулину, а также улучшал контроль гликемии, и все это является основным компонентом в патогенезе НАСГ [88, 127]. Кроме того, лираглутид снижал темпы прогрессирования фиброза сравнительно с группой, получавшей плацебо [177]. Среди пациентов, получавших семаглутид (особенно в дозе 0,4 мг/сут), доля пациентов с метаболическим синдромом во время исследования сократилась примерно вдвое относительно исходных данных. Одновременно семаглутид также снижал маркеры воспаления и активность аминотрансфераз [87].

Таким образом, становится ясно, что патогенез НАЖБП многофакторный процесс. Пациенты имеют различные исходные генетические данные, на фоне которых могут разворачиваться по-разному события накопления жира в печени, воспалительного процесса и развития фиброза. Методы же лечения не совершенны, единого подхода к терапии не существует. Чрезвычайно важным представляется поиск новых маркеров неблагоприятного течения НАЖБП и выделение групп риска пациентов, имеющих прогностические предикторы тяжелого течения заболевания.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

Мы наблюдали 114 пациентов с клинической симптоматикой и лабораторно-инструментальными признаками неалкогольной жировой болезнью печени с сопутствующим ожирением или избыточной массой тела. Весь контингент наших больных проходил обследование и лечение в гастроэнтерологическом или эндокринологическом отделении ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», а также пациенты наблюдались амбулаторно в гепатологическом кабинете гастроэнтерологического отделения ГБУЗ СК «СККБ».

Критерии включения в исследование:

- мужчины и женщины в возрасте от 18 до 70 лет;
- наличие признаков жировой печени при УЗИ: гепатомегалия, повышение эхогенности, снижение звукопроводимости, обеднение сосудистого рисунка паренхимы печени, дистальное затухание эхосигнала;
- признаки НАЖБП в печеночном биоптате – гистологические признаки стеатоза или НАСГ;
- сопутствующее ожирение или избыточная масса тела;
- информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения в исследование:

- сопутствующее употребление алкоголя в гепатотоксических дозах;
- наличие маркеров гепатотропных вирусов – anti-HCV, HBsAg;
- лекарственное поражение печени;
- аутоиммунные болезни печени;
- болезни накопления печени;
- сахарный диабет 1-го типа, сахарный диабет 2-го типа инсулинозависимый;

- наличие онкологических заболеваний в настоящее время или в анамнезе.

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

По типу исследования это было открытое проспективное исследование. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

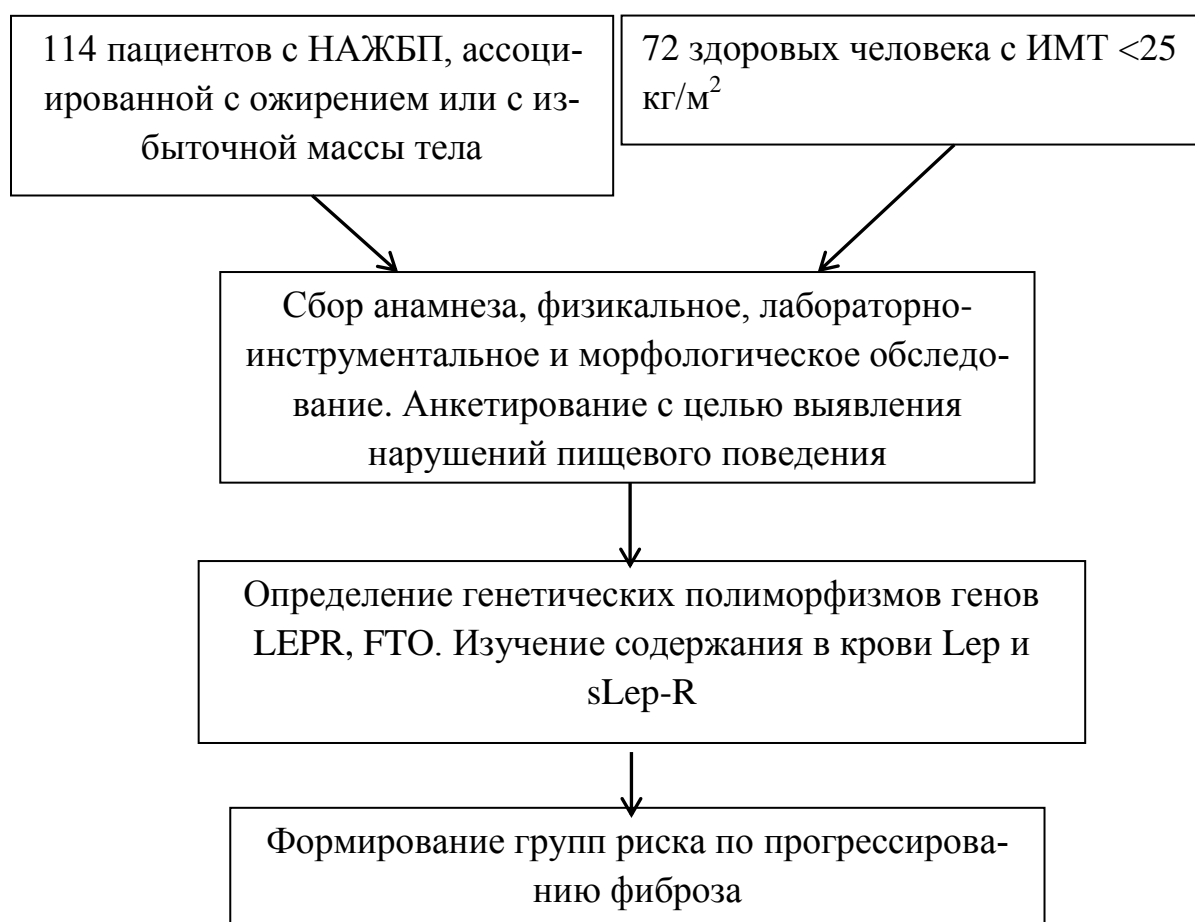


Рис. 1 – Дизайн исследования

По половой принадлежности пациенты были распределены практически одинаково – 56 женщин и 58 мужчин.

Средний возраст пациентов составил $51,4 \pm 1,34$ лет. Возраст пациентов колебался от 22 до 70 лет. Распределение больных согласно возрастной периодизации жизни человека представлено на рисунке 2.

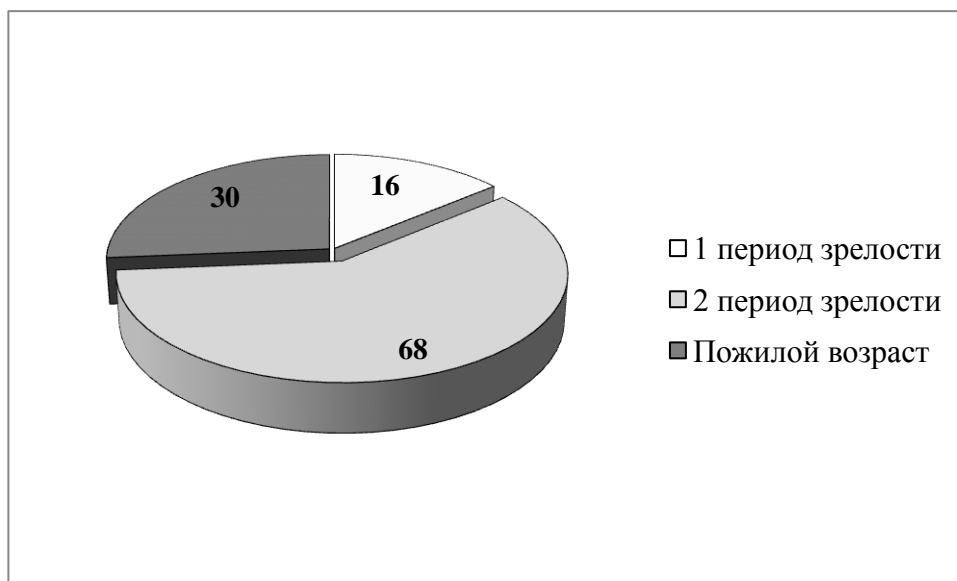


Рис. 2 – Распределение больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, по возрасту

На рисунке 2 показано, что большую часть пациентов (59,6%) составили лица 2-го периода зрелого возраста. Именно эти больные представляют наиболее трудоспособный возраст, что определяет социальную значимость данного заболевания. Пациенты пожилого возраста составили 26,3% от всех обследованных. Молодых пациентов, которые относились к 1-му периоду зрелости, было меньше – 14,1%.

Согласно критериям включения в исследовании участвовали только больные с ожирением или избыточной массой тела. Среднее значение ИМТ по всей группе составило $35,46 \pm 0,92$ кг/м². Минимальный показатель ИМТ у пациента с НАЖБП в нашем исследовании был равен 26 кг/м², максимальный – 57,5 кг/м². На рисунке 3 показано, что в исследовании преобладали пациенты с 1-й степенью ожирения – 33,3% (38 чел.). Меньше было больных с 2-й степенью ожирения – 27,2% (31 чел.), с ИМТ от 25 до 29,9 кг/м² (избыточная масса тела) – 26 чел. и с 3-й степенью ожирения – 19 человек.

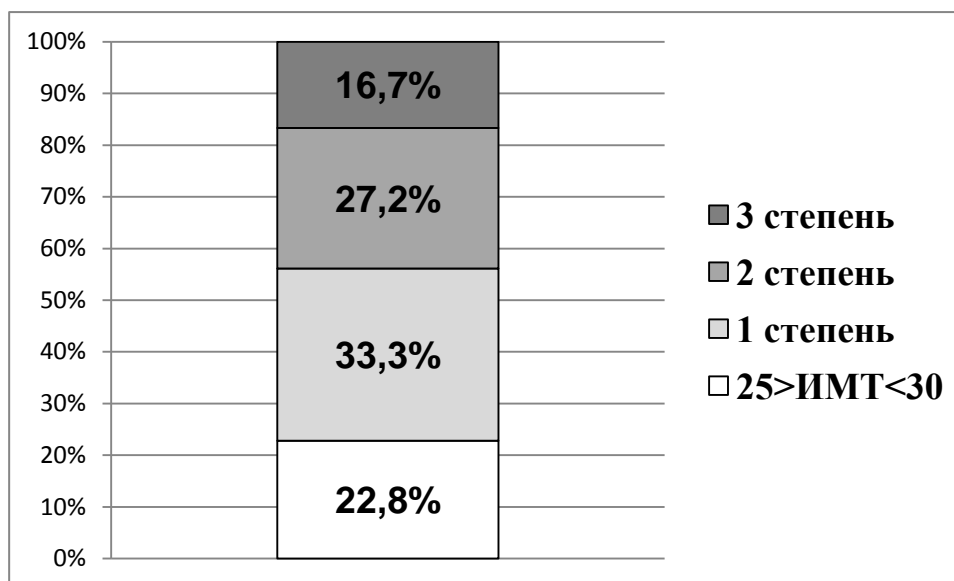


Рис. 3 – Распределение больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, по величине ИМТ

Соотношение ОТ/ОБ характеризует висцеральное ожирение. Полученные антропометрические данные наших больных представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели объема талии, объема бедер и отношение ОТ/ОБ у пациентов с НАЖБП ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследуемый параметр	Мужчины	Женщины	p
n	58	56	
ОТ (см)	117,5±3,31	103,9±2,17	0,001
ОБ (см)	112,5±2,7	117,1±2,1	0,18
ОТ/ОБ	1,04±0,01	0,89±0,014	0,000

По данным таблицы видно, что у лиц мужского пола показатели ОТ и соотношение ОТ/ОБ были выше, чем у женщин, что характеризовало преобладание абдоминального типа ожирения у мужчин.

Пациенты с НАЖБП в основном предъявляли жалобы, представленные в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение жалоб пациентов с НАЖБП

Жалобы	Количество	
	Абс. число	%
Астенизация	81	71
Боли, ощущения тяжести или дискомфорта в правом подреберье	92	80,2
Диспепсическая симптоматика	63	55,2
Ощущение вздутия живота	41	35,9
Нарушение стула (запоры или неустойчивый стул)	38	33,3
Кожный зуд	3	2,6
Геморрагические симптомы	3	2,6
Отсутствие жалоб	13	11,4

Большую часть больных (71%) беспокоили жалобы астенического плана – быстрая утомляемость, слабость. Достаточно часто (80,2%) встречались жалобы на дискомфорт в области правого подреберья – ощущение тяжести, боли тупого, ноющего или колющего характера. Диспепсические симптомы выражались в чувстве тяжести после еды в верхних отделах живота или в ощущении быстрого насыщения и были характерны для 55,2% пациентов. Нарушение стула отмечали 33,3% больных, при этом преобладали жалобы на запоры – 29 чел., а неустойчивый стул был характерен для 9 больных (7,9%). Различные геморрагии в виде носовых кровотечений, кровоточивости десен, кожных кровоподтеков, кровотечений из мест инъекций отмечали редко – только у 3 пациентов. Это были больные с признаками формирования цирроза печени и синдромом гиперспленизма с тромбоцитопенией, однако следует отметить, что эти клинические проявления не были значительно выраженными.

На рисунке 4 показано, что желтушность (или иктеричность) кожи и склер встречалась редко – всего у 4-х чел. (3,5%). Кожные печеночные знаки в виде телеангиэктазий, пальмарной/плантарной эритемы наблюдались у 11

пациентов (9,6%). Увеличенную печень пальпировали у 101 больного (88,5%), а селезенку пропальпировать удалось только у 3 пациентов – 2,6%.

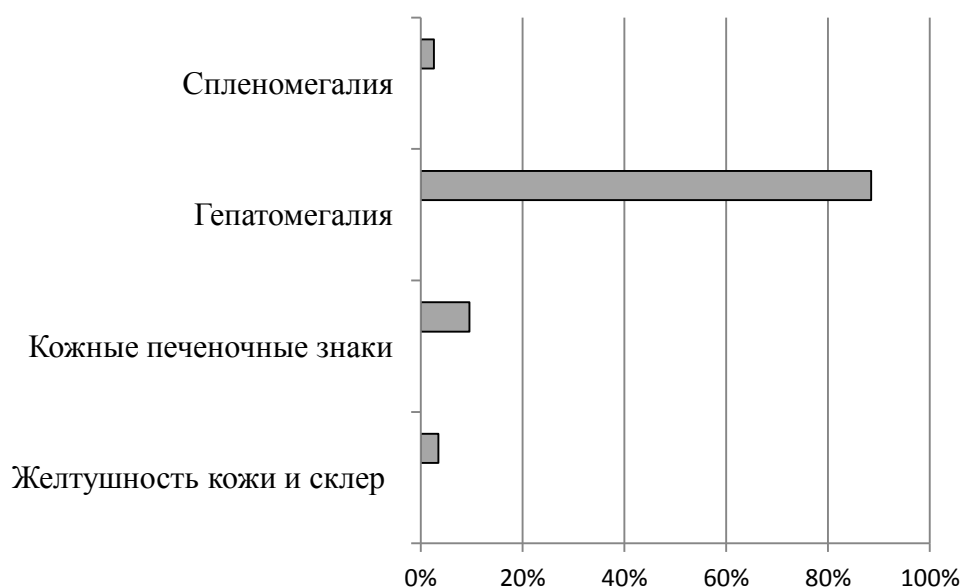


Рис. 4 – Объективные симптомы у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением

Особенное значение для патогенеза НАЖБП имеет состояние липидного обмена. Известно, что заболевание начинается с аккумуляции в ткани органа липидов [73, 78] и гиперлипидемия имеет принципиальное значение. Показатели обмена липидов у наших пациентов отличались от нормы: наблюдалось повышение средних уровней в крови общего холестерина, ХсЛПНП, а также триглицеридов (табл. 3). Средние значения ХсЛПВП находились на нижних границах нормы. В то же время у лиц группы контроля с ИМТ <25 кг/м² мы определяли нормальные значения липидограммы. Так средний уровень общего холестерина у этих лиц был равен 4,68±0,17 ммоль/л (p=0,001 сравнительно с группой НАЖБП), а показатель ТГ был вообще низким – 0,68±0,04 ммоль/л. Следует отметить, что это были люди с нормальной массой тела и без признаков метаболического синдрома.

Таблица 3 – Показатели липидного обмена у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)

Биохимические параметры	Средние значения	Референсные значения лаборатории
Общий холестерин (ммоль/л)	5,83±0,23	2,85 – 5,17
ХсЛПНП (ммоль/л)	3,6±0,22	< 3,0
ХсЛПВП (ммоль/л)	1,08±0,04	1,04 – 1,55
Триглицериды (ммоль/л)	2,85±0,35	< 1,7

После исследования углеводного обмена у пациентов оказалось, что тощаковые показатели глюкозы и инсулина у обследованных пациентов имели тенденцию к повышению (табл. 4).

Таблица 4 – Показатели углеводного обмена у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением (Me (Q1- Q3))

Изученные параметры	Полученные значения	Референсные значения лаборатории
Глюкоза (ммоль/л)	5,98 (5,3 – 7,4)	4,11 – 5,89
Инсулин натощак (мкМЕ/мл)	18,4 (14,4 – 30,01)	3,0 – 25,0
НОМА-индекс	4,8 (4,2 – 7,2)	< 2,5

В качестве показателя инсулинорезистентности использовали вычисление НОМА-индекса, медиана которого значительно превышала нормальные значения. Клинически при этом у 30 больных (26,3%) было диагностировано нарушение толерантности к глюкозе, а у 28 чел. (24,5%) – диагностировали сахарный диабет 2-го типа.

Данные, представленные в таблице 5 свидетельствуют, что у более, чем половины обследованных больных с НАЖБП (57,9%) повышение активности аминотрансфераз не превышало 1,5 норм (нормальные или субнормальные показатели). Средние значения маркеров цитолитического синдрома (амино-трансфераз) были следующие: АлАТ – $56,29 \pm 6,9$ Ед/л, АсАТ – $49,67 \pm 7,7$ Ед/л.

Таблица 5 – Активность АлАТ или АсАТ у пациентов с НАЖБП

Увеличение относительно верхних границ нормы	Количество	
	Абс. число	%
До 1,5 N	66	57,9
1,5-3N	35	30,7
Свыше 3N	13	11,4

Средняя активность ГГТ у наших пациентов ($97,27 \pm 16,34$ Ед/л) превышала нормальные показатели. При этом у 53,5% больных НАЖБП показатели этого фермента не были повышены. Средние показатели билирубина в группе не превышали норму – $14,42 \pm 0,89$ мкмоль/л.

Активность ЩФ в среднем по всей группе пациентов составила $96,5 \pm 7,38$ Ед/л, что не превышало норму. Однако у 17 (14,9%) больных отмечалось повышение активности ЩФ одновременно с активностью ГГТ, что было характерно для холестатического синдрома.

У 45 (39,4%) пациентов имелись признаки мезенхимально-воспалительного синдрома, определяемого по уровням С-реактивного протеина, СОЭ и γ -глобулинов.

Сниженные показатели содержания в крови общего белка и альбумина, говорящие о нарушении белково-синтетической функции печени, наблюдались только у 4 пациентов. В этих случаях отмечалась симптоматика формирования цирроза печени, но признаков декомпенсации в виде развития отёчно-асцитического синдрома не было.

С помощью ультразвукового исследования печени оценивали степень стеатоза, данные распределились следующим образом: стеатоз 1-й степени отмечался у 40 чел., (35,1%), стеатоз 2-й степени – у 46 чел. (40,3%), а стеатоз 3-й степени находили у 28 больных (24,5%). О возможности УЗ-оценке стеатоза при НАЖБП имеются данные в работе и других исследователей [216].

Также пациентам выполнялась эластометрия печени, позволяющая оценить плотность печеночной ткани. При анализе данных принимали во внимание факт наличия жировой дистрофии, которая может способствовать завышению данных. Фиброз F0-1 регистрировали у 45 чел. (39,5%), F2 – у 40 пациентов (35,1%), F3 – у 26 пациентов (22,8%). У 3-х больных (2,6%) НАЖБП отмечались показатели $>12,5$ кПа, что соответствовало уровню фиброза F4, у этих же пациентов находили спленомегалию и увеличение диаметров воротной и селезеночной вены, что характеризовало формирование портальной гипертензии.

В нашем исследовании биопсия печени была выполнена 37 пациентам с НАЖБП. В биоптатах оценивали степень стеатоза, стадию фиброза печени и наличие стеатогепатита. После проведения гистологического исследования оказалось, что у 14 (37,8%) пациентов был выявлен стеатоз 1-й степени по Brunt E.M., 2-й степени – у 13 (35,1%) больных и 3-й степени у – 10 (27,1%) чел. В 16 (43,2%) случаях был определен фиброз F1 или отсутствие признаков фиброза, у 12 больных F2 (32,4%), а в 9 случаях регистрировали стадию фиброза F3 (24,3%). Если по клиническим и лабораторно-инструментальным данным пациентам выставлялся диагноз цирроза печени (F-4), то в нашем исследовании биопсия печени этим больным не проводилась. У 19 пациентов, по данным биопсии, был верифицирован неалкогольный стеатогепатит – 51,3%. Эти больные имели по шкале NAS-II более 5 баллов.

Артериальная гипертензия регистрировалась у 35 пациентов, что составило 31% от всей группы с жировой болезнью печени и имело важное клиническое значение. Хорошо известно, что АГ является компонентом МС.

Другая сопутствующая патология у наших пациентов была представле-

на патологией билиарного тракта (дискинезии желчевыводящих путей, желчнокаменная болезнь, билиарный сладж), заболеваниями пищевода (гастро-эзофагеальная рефлюксная болезнь), желудка и двенадцатиперстной кишки (хронический гастрит, хронический дуоденит, язвенная болезнь), болезнями поджелудочной железы (хронический панкреатит), функциональной патологией кишечника (синдром раздраженной кишки). При включении в исследование эти сопутствующие заболевания у больных НАЖБП были в состоянии ремиссии.

Профиль сопутствующих заболеваний органов пищеварения пациентов, включенных в исследование, представлен в таблице 6.

Таблица 6 – Сопутствующие заболевания органов пищеварения у пациентов с НАЖБП

Сопутствующие заболевания	Количество пациентов	
	Абс. число	%
Дискинезии желчевыводящих путей	25	21,9
Желчнокаменная болезнь (билиарный сладж, хронический калькулезный холецистит)	11	9,6
Хронический панкреатит	26	22,8
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	20	17,5
Хронический гастрит, хронический дуоденит	28	24,5
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	10	8,7
Синдром раздраженной кишки с преобладанием запоров	11	9,6

Все пациенты, включенные в исследование, проходили анкетирование с помощью опросников DEBQ. По результатам анкетирования у всех пациентов были выявлены те или иные нарушения пищевого поведения. Полученные результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Типы нарушений пищевого поведения у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением

Типы нарушений пищевого поведения	Количество пациентов	
	Абс. число	%
Эмоциональное	60	52,6
Экстернальное	19	16,6
Ограничительное	12	10,5
Эмоциональное + экстернальное	11	9,6
Экстернальное + ограничительное	8	7,1
Эмоциональное + ограничительное	2	1,8
Эмоциональное + экстернальное + ограничительное	2	1,8

При НАЖБП чаще имело место нарушение пищевого поведения по эмоциональному типу (более половины пациентов) и экстернальному типу, а также наблюдалось сочетание этих вариантов. Ограничительный тип наблюдали реже – всего в 10,5% случаев. Кроме того, отмечались пациенты с сочетанными видами нарушений пищевого поведения. Имеющиеся у всех наших пациентов расстройства образа жизни в виде неправильного питания на фоне ожирения или избыточной массы тела создавали сложность в модификации образа жизни, необходимого, в первую очередь, для правильного лечения НАЖБП.

В первую очередь при назначении терапии мы делали акцент на ограничения суточного рациона пациента. Согласно рекомендациям Российской ассоциации эндокринологов, ориентировались на снижение массы тела на 5–10% за 3–6 месяцев терапии и стабилизацию результата в течение года [14, 15]. Более значимую потерю массы тела (15–20% и более) рекомендовали для больных с ИМТ ≥ 35 кг/м². Акцентировали внимание пациента, что гипокалорийная диета (дефицит 500–700 ккал от физиологической потребности с учетом массы тела, возраста и пола) должна быть сбалансирована по пищевым

ингредиентам. Далее следует этап сохранения достигнутой массы тела, для реализации этой цели необходимо придерживаться сбалансированной по пищевым составляющим эукалорийной диеты.

По необходимому питанию каждому пациенту выдавались индивидуальные рекомендации. Для расчета суточного рациона пользовались рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов [14, 15]. Вначале рассчитывали фактическую калорийность суточного рациона питания. Потом вычисляли физиологический суточный расход энергии по формуле:

Для лиц женского пола:

возраст 18–30 лет: $[0,0621 \times \text{масса тела (кг)} + 2,0357] \times 240$;

возраст 31–60 лет: $[0,0342 \times \text{масса тела (кг)} + 3,5377] \times 240$;

возраст >60 лет: $[0,0377 \times \text{масса тела (кг)} + 2,7546] \times 240$.

Для лиц мужского пола:

возраст 18–30 лет: $[0,0630 \times \text{масса тела (кг)} + 2,8957] \times 240$;

возраст 31–60 лет: $[0,0484 \times \text{масса тела (кг)} + 3,6534] \times 240$;

возраст >60 лет: $[0,0491 \times \text{масса тела (кг)} + 2,4587] \times 240$.

Если пациент ведет малоподвижный образ жизни, вычисленное значение умножали на 1,1, при умеренной физической активности – на 1,3, если пациент занимается физической работой или активным спортом – на 1,5. Находили калорийность суточного рациона питания, необходимую для снижения массы тела: из полученной величины калорийности суточного рациона отнимали 20% (500–600 ккал). Если же фактический рацион питания превышал 3000 ккал/сут, то снижали суточный калораж постепенно, уменьшая его на 300–500 ккал в неделю до достижения рассчитанной индивидуальной нормы калорий.

Согласно клиническим рекомендациям пациентам рекомендовали регулярные аэробные физические упражнения продолжительностью не менее 30 минут в большинство из дней или не менее 150 минут в неделю.

При назначении медикаментозной терапии также применяли индивидуальный подход. Так, 22 пациента с сахарным диабетом получали метфор-

мин. 39 человек получали статины с целью снижения уровня холестерина. В качестве гепатопротекторов назначали препараты УДХК – 35 пациентов, препараты, содержащие глицирризиновую кислоту (Фосфоглив форте), – 48 чел., бициклол – 19 чел., адеметионин – 12 чел. Однако внимание пациентов акцентировали на том, что без снижения массы тела успеха добиться не удастся.

Клинический материал был представлен достаточным количеством больных неалкогольной жировой болезнью печени. Были применены современные методы исследования, включающие, в том числе, и морфологическое исследование, что дало возможность верифицировать клиническую форму НАЖБП. Проведенный объем исследований позволил реализовать поставленные цели и задачи.

ГЛАВА 3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Общие клинические и лабораторно-инструментальные методы исследования

Все пациенты, наблюдаемые нами в рамках исследования, проходили как стандартное клиническое обследование, так и специальное обследование, необходимые для реализации поставленных целей и задач. Обследование проводилось до назначения лечения.

Полное клиническое исследование включало: опрос, сбор анамнеза и осмотр с применением физикальных методов. В обязательном порядке определяли антропометрические параметры: рост пациента, масса тела, ОТ, ОБ. Степень ожирения диагностировали с помощью ИМТ по Кетле, выражаемому в $\text{кг}/\text{м}^2$.

Забор крови, как для общепринятых, так и для специальных методов исследования, выполнялся у пациентов из периферической вены в утренние часы строго натощак. Пробирки с образцами крови, предназначенными для специальных методик, центрифугировали в течение 15 минут со скоростью 3000 оборотов в минуту в центрифуге с плавающим ротором при комнатной температуре. Полученные образцы плазмы замораживали и хранили в морозильной камере при температуре ниже -25°C . Размораживали исследуемые образцы плазмы непосредственно перед исследованием.

Всем пациентам назначали общий анализ крови и мочи, а также биохимические параметры – билирубин общий и прямой, АлАТ, АсАТ, ГГТ, ЩФ, общий белок и белковые фракции, протромбиновое время, общий холестерин, ХсЛПВП, ХсЛПНП, триглицериды.

Определение глюкозы в крови проводили натощак и через 2 часа после приема. Дополнительно к глюкозе изучали уровень инсулина натощак, а затем НОМА-индекс, который отражал инсулинорезистентность. Для этого показатели инсулина и глюкозы перемножали, а полученное значение делили

на 22,5. За ИР принимали значение больше 2,5. При выявлении гипергликемии определяли уровень гликированного гемоглобина – HbA1c.

Всем пациентам определяли серологические маркеры HBV и HCV инфекций: HBsAg и anti-HCV методом ИФА. Наличие в крови маркеров вирусных гепатитов являлось критерием исключения из нашего исследования.

Всем пациентам назначали ультразвуковое исследование органов брюшной полости. УЗ-критериями жировой болезни печени являлись: увеличение размеров печени, повышение эхогенности (яркости), контраст эхогенности паренхимы печени и почек, дистальное затухание эхосигнала (снижение звукопроводимости), обеднение сосудистого рисунка паренхимы печени по периферии. Степень выраженности стеатоза печени определяли согласно методике, основанной на сравнении эхогенности печени и коркового вещества правой почки, и классифицировали следующие варианты: 0 (нет стеатоза), 1 (минимальный), 2 (умеренный), 3 (тяжелый стеатоз) [44]. Акцентировали также внимание на признаках формирования синдрома портальной гипертензии: увеличение размеров селезенки и расширение диаметров воротной и селезеночной вен.

Эластометрия печени выполнялась всем пациентам на аппарате SuperSonic Imagine Aixplorer (Франция). Выраженность фиброза выражалась в кПа и классифицировалась по шкале METAVIR от F0 до F4.

37 пациентам была выполнена пункционная биопсия печени. Оценка гистологических препаратов проводилась доцентом кафедры патологической анатомии СтГМУ Касторной И.В. В полученных биоптатах определяли степень стеатоза и стадию фиброза по Brunt E.M. Согласно этой классификации, различают 3 степени стеатоза: 1-я степень – стеатоз <33% всех гепатоцитов, 2-я степень – стеатоз 34-66%, 3-я степень – стеатоз >66%. Выделяются 4 стадии фиброза: I стадия характеризуется наличием перисинусоидального фиброза, фиброз II стадии – дополнительно появляются признаки портального /перипортального фиброза, фиброз III стадии – отмечается появление соединительнотканых септ. При последней IV

стадии фиброза имеется выраженный септальный фиброз и формируется узловая перестройка паренхимы (признаки цирроза печени).

Для диагностики неалкогольного стеатогепатита использовали систему NAS-score, которая представляет собой сумму числовых оценок, применяемых к стеатозу (0-3), баллонной дистрофии гепатоцитов (0-2) и лобулярному воспалению (0-3). Согласно правилам данной шкалы диагноз неалкогольного стеатогепатита выставляется при полученной сумме 5-8 баллов [1].

3.2. Специальные методы исследования

Помимо вышеперечисленных общепринятых методов исследования применялись специальные методики, позволяющие реализовать цель и задачи исследования.

3.2.1. Анкетирование пациентов для выявления нарушений пищевого поведения

Всем включенным в исследование пациентам проводили тестирование пищевого поведения с помощью анкет DEBQ (голландский опросник нарушений пищевого поведения) (приложение) [266].

Обработка полученных результатов опросника у каждого пациента проводилась следующим образом: за каждый ответ «никогда» начисляли 1 балл, «очень редко» – 2 балла, «иногда» – 3, «часто» – 4 и «очень часто» – 5 баллов. В вопросе 31 поступали противоположным образом – 5 за ответ «никогда» и 1 балл за ответ «очень часто».

Далее баллы, полученные за первые 10 вопросов, складывали и делили сумму на 10. Ответы на эти вопросы представляют шкалу **ограничительного** (диетического) пищевого поведения, которое отличается преднамеренными усилиями, направленными на достижение или поддержание желаемого веса

посредством самоограничения в питании. Норма по этой шкале составляет 2,4.

Баллы, полученные за ответы на вопросы 11-23, складывали и делили сумму на 13. Эта часть опросника характеризовала **эмоциональное** пищевое поведение. При данном типе нарушения пищевого поведения желание поесть появляется в ответ на различные эмоциональные состояния. Норма по этой шкале составляет 1,8.

Баллы, за вопросы 24-33, складывали и делили сумму на 10. Полученный результат характеризовал **экстернальное** пищевое поведение, при котором желание вызывает не реальное чувство голода, а внешний вид еды, ее запах, текстура либо вид других людей, принимающих пищу. Норма по этой шкале равна 2,7.

3.2.2. Молекулярно-генетические исследования

Все молекулярно-генетические исследования проводились в лаборатории научно-исследовательского отдела «Центр персонализированной медицины» СтГМУ. Исследование проводила доцент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии, к.м.н. Рогова С.Ш.

Олигонуклеотидный полиморфизм гена LEPR (Gln223Arg) и олигонуклеотидный полиморфизм Т/А гена FTO (rs9939609) определяли с помощью аллельспецифической ПЦР (тест-системы ООО НПФ «Литех») с последующей электрофоретической детекцией.

Для генетического исследования осуществляли забор венозной крови натощак в количестве 9 мл в стандартные одноразовые пробирки Vacuette, содержащие КЗ EDTA. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови, применяя с помощью набора реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ» производства НПФ «Литех». Биологическим источником исследования являлись образцы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Получен-

ные образцы ДНК хранилась в морозильной камере при температуре -20°C длительностью до 1 месяца.

Для идентификации полимерных аллелей в генах рецептора лептина и гена FTO использовали амплификацию соответственных участков генов методом аллельспецифической полимеразной цепной реакции. Затем выполнялась детекция с помощью горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле. Полимеразноцепную реакцию выполняли согласно инструкции производителя реактивов НПФ Литех (Россия). Регистрация результатов производилась по наличию четких и примерно одинаковой интенсивности полос, характеризующих накопление амплификата в пробе.

ПЦР проводилась в термостате программируемом для проведения ПЦР-анализа четырехканальном (ТПЧ-4-ПЦР-01-«Терцик») производства ООО «НПО-ДНК-Технология» по следующей программе: начальная денатурация 93° – 1 мин, далее 35 циклов по схеме: 93° – 10 сек, 64° – 10 сек, 72° – 20 сек, 1 цикл 72° – 1 мин.

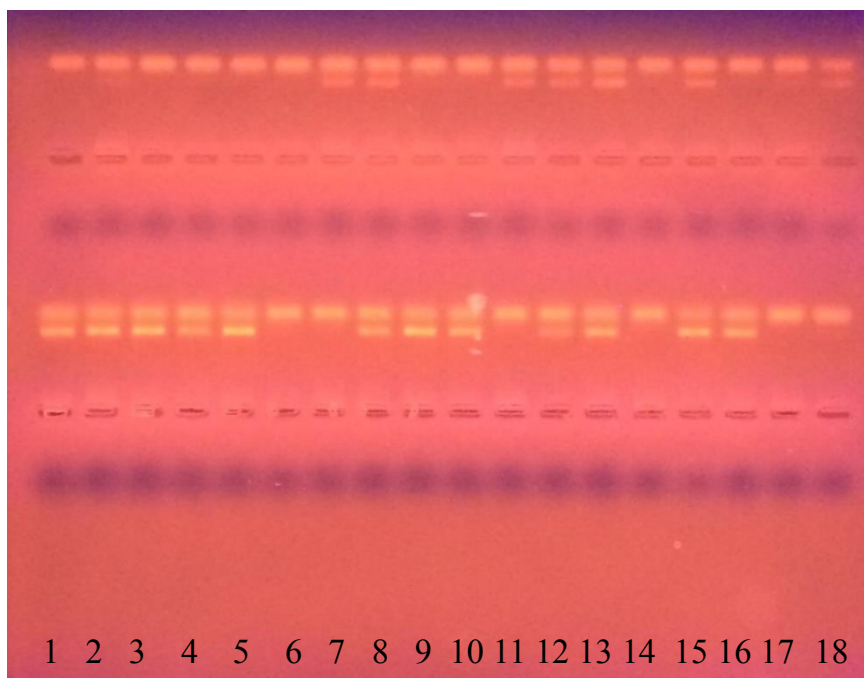


Рис. 5 – Электрофореграмма продуктов амплификации полиморфного локуса LEPR Gln223Arg: образцы 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 16 – Arg223Arg, образцы 8,12,13,15 – Arg223Gln, образцы 7,11,18 – Gln223Gln, 6, 14, 17 – невалидные пробы

При интерпретации результатов обращали внимание на невозможность появления в данных анализах слабоположительных проб. Считается, что полосы на электрофореграмме должны быть четкими и примерно одинаковой интенсивности (возможны небольшие различия в яркости как между тестами на Аллель 1 и Аллель 2, так и от пробы к пробе). Примеры анализа результатов представлены на рисунках 5 и 6.

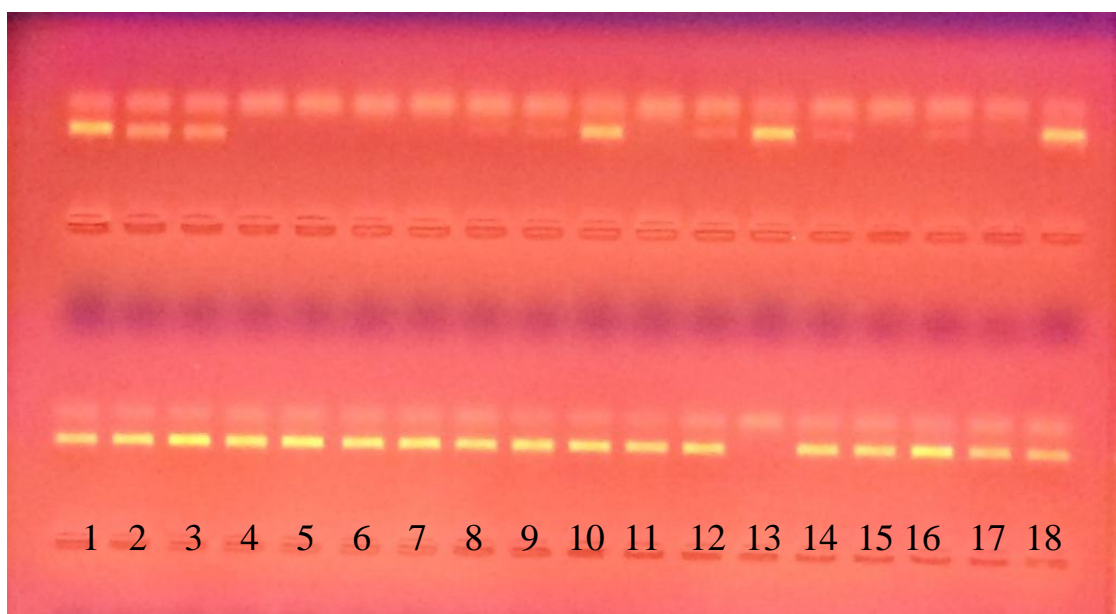


Рис. 6 – Электрофореграмма продуктов амплификации полиморфного локуса Т/А гена FTO (rs9939609): образцы 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17 – ТТ, образцы 1, 10, 18 – ТА, образец 13 – АА

3.2.3. Определение в крови уровней лептина и его растворимого рецептора методом иммуноферментного анализа

В плазме крови больных определяли концентрацию лептина методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем «Diagnostics Biochem Canada Inc.». Добавление реагентов в процессе анализа выполняли строго по инструкции к тест-системе. Измерение оптической плотности образцов, определяемое по интенсивности окраски раствора, производили при длине волны 630 нм на автоматическом фотометре верти-

кального сканирования Multiskan FC 1.00.79. Образец калибровочной кривой одной из тест систем приведен на рисунке 7.

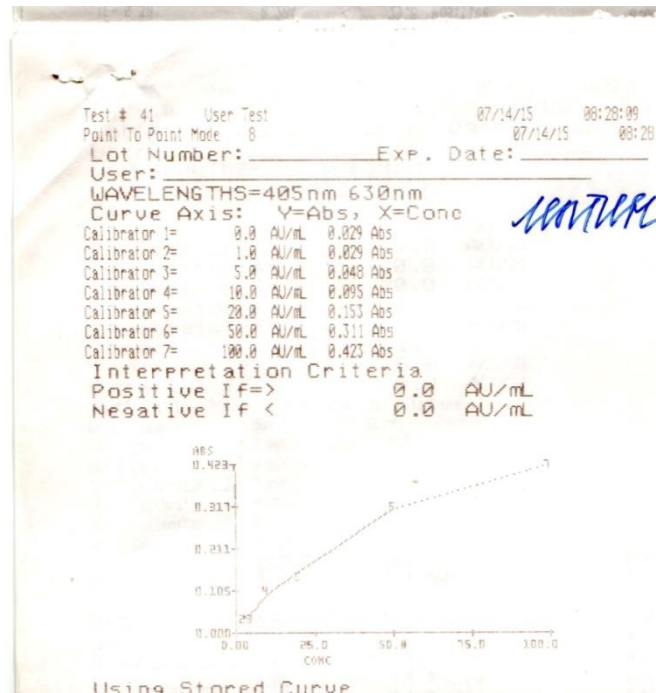


Рис. 7 – Калибровочная кривая одной из тест-систем для определения содержания лептина

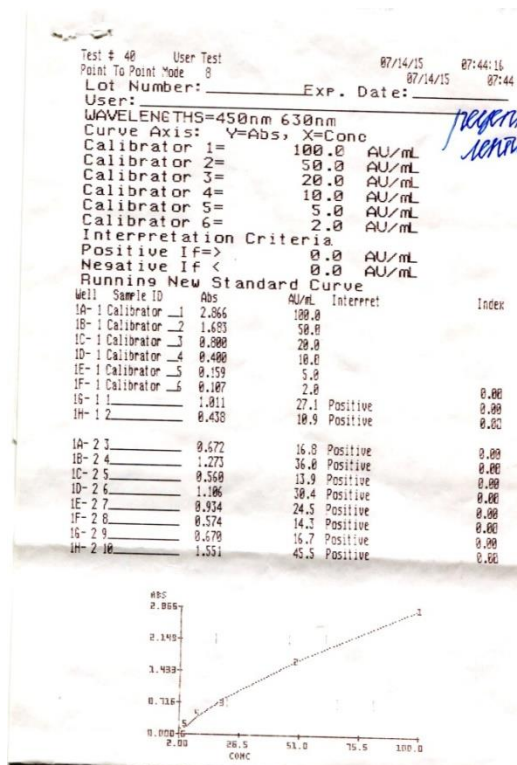


Рис. 8 – Калибровочная кривая одной из тест-систем для определения содержания в плазме растворимого рецептора лептина

В тех же образцах плазмы изучали содержание sLep-R также методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем («BioVendor», Чехия). Образец калибровочной кривой представлен на рисунке 8. Выполнялось исследование строго согласно инструкции, регистрировали результаты при длине волны 450 нм. Все ИФА-исследования выполнялись доцентом кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Роговой С.Ш.

3.2.4. Статистическая обработка результатов исследования

Все полученные результаты были статистически обработаны с помощью компьютерных программ «Microsoft Office Excel 2010» с встроенной подпрограммой «Attestat 10.5.1», «IBM SPSS Statistics 21». Характер распределения изучаемых признаков оценивался с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении выборки данных количественные значения представлены в виде средней \pm стандартная ошибка средней ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$). У групп с нормальным распределением данных при сравнительном анализе применяли критерий Стьюдента. При ненормальном распределении данных результаты представлялись в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1 - Q3)). Для сравнительного анализа показателей в этих группах использовали U-критерий Манна-Уитни. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$. Анализ корреляционных зависимостей проводили с определением критерия Спирмэна.

Применяли ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic) с построением ROC-кривой для вычисления оптимального значения величины порога отсечения. Диагностическую ценность признаков определяли в % их чувствительностью, специфичностью, положительной и отрицательной предсказательной ценностью, точностью – Sp, Se, NPV, PPV, Ac. Для определения степени риска изучали отношение шансов – ОШ и его 95% доверительный интервал.

В итоге, комплекс проведённых нами исследований был исполнен на современном уровне и в достаточном объёме для осуществления задач и решения вопросов, поставленных диссертацией.

Автор искренне благодарен сотрудникам гастроэнтерологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница» (заведующая отделением – главный внештатный гастроэнтеролог СК, к.м.н. Перекалина М.В.) за помощь и содействие в выполнении клинической части работы, доценту кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО СтГМУ к.м.н. Касторной И.В. за морфологическую часть исследования и доценту кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии ФГБОУ ВО СтГМУ Роговой С.Ш. за выполнение специальных методик.

ГЛАВА 4. БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ У БОЛЬНЫХ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)

4.1. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина и содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением

Частота ПЕН Gln223Arg LEPR была изучена у 114 пациентов с диагностированной неалкогольной жировой болезнью печени на фоне ожирения или избыточной массы тела. Среди обследованных женщин было 56, а мужчин – 58. Возраст пациентов составил $51,4 \pm 1,34$ лет. Средний показатель ИМТ был равен $35,46 \pm 0,92$ кг/м². Полученные данные полиморфизма гена рецептора лептина представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП и здоровых лиц

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

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

Данные о частотах аллелей и генотипов ПЕН Gln223Arg гена LEPR соответствовали равновесию Харди-Вайнберга.

Нами было выявлено, что у больных НАЖБП, ассоциированной с ожирением, гомозиготный генотип Arg223Arg встречался реже, чем у здоровых лиц с нормальной массой тела. Гетерозиготный вариант Gln223Arg демонстрировал тенденцию к большей частоте у больных, но полученные различия оказались статистически недостоверными ($p=0,056$).

В то же время изучение собственных долей аллелей показало, что аллель 223Gln при жировой болезни печени на фоне ожирения определялся чаще, а 223Arg, наоборот, реже, чем в группе здоровых ($p=0,04$). Присутствие аллеля Gln оказалось предрасполагающим к развитию НАЖБП – OR = 1,61 (1,04 – 2,49), $p=0,031$.

Плазменный уровень лептина в крови пациентов с НАЖБП был выше, чем у лиц из группы здоровых. А вот содержание растворимого рецептора, наоборот, было ниже, чем у здоровых добровольцев. Для каждого пациента вычислялся индекс свободного лептина в виде соотношения Lep/sLep-R, отражающий биодоступность лептина. Оказалось, что данный показатель у пациентов с НАЖБП почти в 3 раза превышал подобный индекс у здоровых лиц с нормальной массой тела, что демонстрировало наличие лептинорезистентности в этой группе (табл. 9).

Таблица 9 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, ассоциированной с ожирением (Me (Q1- Q3))

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

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

Кроме того, мы определили отрицательную корреляционную связь между показателями в крови лептина и sLep-R у пациентов в группе с НАЖБП – $r_s = -0,61$ ($p = 0,0005$). Обнаруженная корреляция отражает взаимоотношения в системе лептин – растворимый рецептор лептина.

Важным представлялся нам поиск возможных взаимосвязей между присутствием полиморфизма гена LEPR и изменением продукции рецептора лептина. Был проведен анализ уровней в крови лептина и sLep-R при различных генотипах LEPR (табл. 10).

Таблица 10 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, ассоциированной с ожирением, при разных генотипах LEPR (Me (Q1- Q3))

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

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

Исходя из сведений таблицы 10 следует, что наличие у пациентов только аллеля 223Arg (гомозиготный генотип Arg223Arg) сопровождалось сравнительно более низкими уровнями в крови лептина, чем у больных смешанной группы с наличием 223Gln (Gln223Arg + Gln223Gln). Содержание растворимого рецептора лептина в этих подгруппах практически не различалось, но в то же время индекс свободного лептина, указывающий на наличие лептинорезистентности, в присутствии аллеля 223Gln был выше, чем у гомозиготных лиц Arg223Arg.

Мы не определили достоверных зависимостей полиморфизмов гена LEPR у больных НАЖБП в зависимости от половой принадлежности (табл. 11).

Таблица 11 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от половой принадлежности

Генотипы и аллели	Женщины (n=56)	Мужчина (n=58)	p
Генотипы LEPR			
Arg223Arg	0,36 (n=20)	0,41 (n=24)	0,33
Gln223Arg	0,37 (n=21)	0,33 (n=19)	0,26
Gln 223Gln	0,27 (n=15)	0,26 (n=15)	0,08
Аллели Arg и Gln			
223Arg	0,54 (n=61)	0,58 (n=67)	0,28
223Gln	0,46 (n=51)	0,42 (n=49)	

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

Было также изучено содержание лептина и его растворимого рецептора sLep-R у больных НАЖБП в зависимости от пола пациентов, полученные данные представлены в табл. 12.

Таблица 12 – Содержание лептина и sLep-R в крови женщин и мужчин с НАЖБП, ассоциированной с ожирением (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	Женщины	Мужчины	p
n	56	58	
Лептин (нг/мл)	37,2 (23,5 – 54,8)	18,55 (8,8 – 44,8)	0,019
sLep-R (нг/мл)	16,0 (14,9 – 20,2)	16,7 (15,0 – 20,6)	0,39
Lep/sLep-R	2,41 (1,2 – 3,5)	1,07 (0,42 – 2,91)	0,045

Примечание: p – достоверность различий между женщинами и мужчинами с НАЖБП, критерий Манна-Уитни.

У женщин с НАЖБП на фоне ожирения содержание лептина было выше, чем у пациентов мужского пола, но уровни растворимого рецептора лептина не различались относительно половой принадлежности. Соотношения Lep/sLep-R (индекс свободного лептина) у женщин соответственно оказался выше, чем у лиц мужского пола.

Данные о долях ПЕН Gln223Arg гена LEPR в зависимости от возрастной периодизации больных НАЖБП, представленные на рисунке 9, свидетельствуют об отсутствии каких-либо различий у пациентов разных возрастных групп.

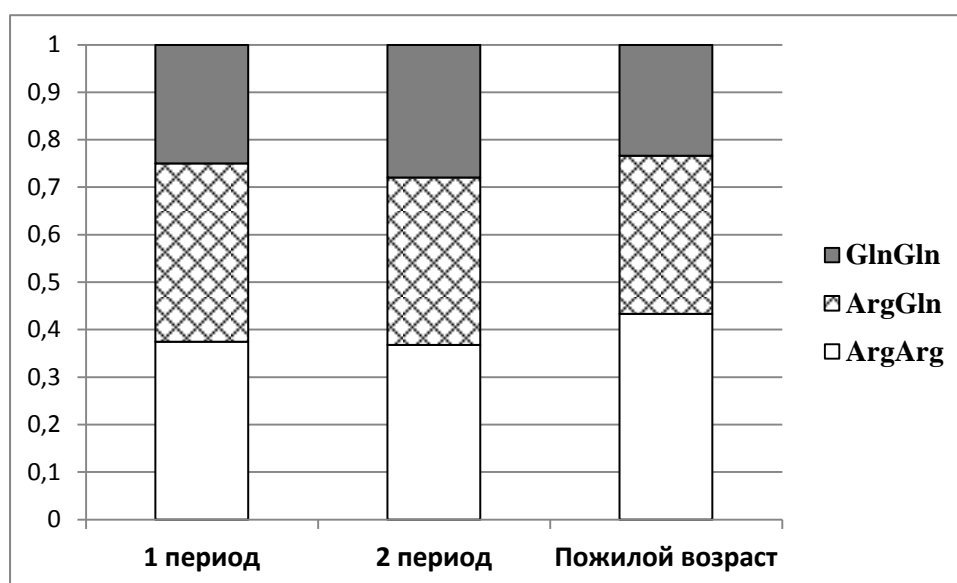


Рис. 9 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от возраста

Доля аллеля 223Arg составила у пациентов 1-го периода зрелости 0,56, при 2-м периоде зрелости – 0,54 и у пожилых – 0,6. Соответственно аллель 223Gln встречался с частотой 0,44, 0,46 и 0,4. Данные распределения изучаемых аллелей по возрастным периодам статистически не различались.

Был также проведен анализ зависимости сывороточных уровней лептина, его растворимого рецептора в зависимости от возраста пациентов. Как видно из данных таблицы 13 никаких статистически значимых отличий об-

суждаемых параметров в зависимости от возраста пациентов выявлено не было, во всех случаях сравнения – $p > 0,1$.

Таблица 13 – Концентрация лептина и sLep-R в крови пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением, в зависимости от возраста пациентов (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	1-й период зрелости	2-й период зрелости	Пожилой возраст
n	16	68	30
Лептин (нг/мл)	32,2 (12,2 – 41,7)	21,55 (8,7 – 53,8)	21,9 (10,2 – 66,6)
sLep-R (нг/мл)	19,2 (14,6 – 20,2)	20,0 (15,9 – 21,2)	15,85 (13,7 – 22,2)
Lep/sLep-R	1,83 (0,48 – 2,49)	1,05 (0,42 – 3,4)	1,23 (0,66 – 4,7)

Особый интерес вызывал анализ частот полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от ИМТ. Мы разделили наблюдаемых нами пациентов на 2 условные группы. В первую группу вошли пациенты с ИМТ менее 30 кг/м^2 (избыточная масса тела) и с 1-й степенью ожирения – 64 чел., а во второй группе были лица со 2-й и 3-й степенями ожирения – 50 больных. Эти данные представлены в таблице 14.

Табл. 14 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от ИМТ

Генотипы и аллели	ИМТ $< 30 \text{ кг/м}^2$ + 1-я степень ожирения (n=64)	Ожирение 2-й и 3-й степени (n=50)	p
Генотипы LEPR			
Arg223Arg	0,53 (n=34)	0,2 (n=10)	0,00005
Gln223Arg	0,25 (n=16)	0,48 (n=24)	0,018
Gln 223Gln	0,22 (n=14)	0,32 (n=16)	0,31
Аллели Arg и Gln			
223Arg	0,66 (n=84)	0,44 (n=44)	0,017
223Gln	0,34 (n=100)	0,56 (n=56)	

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

Выяснилось, что у пациентов 2-й группы реже встречались генотипы Arg223Arg и чаще Gln223Arg по сравнению с лицами, у которых ожирение было не выше 1-й степени. В то же время, аллель 223Gln встречался чаще, а аллель 223Arg соответственно реже у лиц с ожирением 2-й и 3-й степеней.

В этих же двух группах пациентов с НАЖБП, разделенных в зависимости от степени ожирения, было проанализировано наличие лептина, его растворимого рецептора и соотношения Lep/sLep-R (табл. 15).

Таблица 15 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, в зависимости от степени ожирения (Me (Q1- Q3))

Изучаемый параметр	ИМТ <30 кг/м ² + 1-я степень ожирения	Ожирение 2-й и 3-й степени	p
n	64	50	
Лептин (нг/мл)	14,7 (8,8 – 26,7)	48,0 (16,8 – 54,8)	0,013
sLep-R (нг/мл)	19,8 (15,8 – 20,4)	16,3 (14,3 – 21,1)	0,22
Lep/sLep-R	0,78 (0,42 – 1,29)	2,91 (0,9 – 3,5)	0,018

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

Известно, что лептинорезистентность чаще всего выявляется при морбидном ожирении, чем у лиц с нормальной массой тела [150]. В нашем исследовании оказалось, что выраженное ожирение было ассоциировано с более высокими уровнями Lep в крови, при этом уровень sLep-R в этих группах практически не различался (табл. 15). В то же время индекс свободного лептина у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степеней был выше, чем у больных с показателями ИМТ, не превышающими 1-ю степень ожирения. Эти полученные данные подтверждает также проведенный корреляционный анализ, который показал, что уровень циркулирующего лептина имел прямую корреляционную зависимость от индекса массы тела ($r_s = 0,31$; $p = 0,038$). Кроме того, показатели лептина в крови обнаруживали положительную корреляционную зависимость от индекса ОТ/ОБ ($r_s = 0,34$; $p = 0,04$), что подтверждало данные о взаимосвязи гиперлептинемии и лептинорезистентности с ожирением.

Таким образом, мы выяснили, что при НАЖБП, ассоциированной с ожирением, гомозиготный генотип Arg223Arg и аллель 223Arg встречаются реже, чем в группе контроля. Распределение генотипов LEPR не зависело от пола и возраста пациентов. У лиц с ожирением 2-й и 3-й степеней реже встречались генотип Arg223Arg, аллель 223Arg и чаще наблюдался генотип Gln223Arg по сравнению с больными, имеющими ожирение не выше 1-й степени. Уровень в крови лептина у пациентов с НАЖБП и индекс свободного лептина были повышены, а содержание sLep-R – снижено. Имелась отрицательная корреляция между концентрациями в крови лептина и sLep-R у больных НАЖБП. При гомозиготном генотипе Arg223Arg содержание в крови лептина и индекс свободного лептина были ниже, чем в смешанной группе пациентов с наличием аллеля 223Gln (Gln223Arg + Gln223Gln). Содержание лептина и соотношение Lep/sLep-R не зависели от возраста больных, но были выше у женщин и у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степеней. Концентрация лептина имела прямую зависимость от ИМТ и соотношения ОТ/ОБ.

4.1.1. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен липидов

Известно, что нарушение липидного обмена играет важную роль в развитии жировой болезни печени [59, 76, 259, 270]. Нами был проведен анализ зависимости показателей липидограммы от генотипа LEPR у больных с НАЖБП.

У пациентов, имеющих аллель 223Gln (суммарно генотипы Gln223Arg и Gln223Gln), были отмечены повышенные значения ХсЛПНП (табл. 16) сравнительно с больными жировой болезнью печени с гомозиготным генотипом Arg223Arg, а также наиболее высокие показатели ТГ. При этом уровни

ХсЛПВП практически не различались в этих подгруппах пациентов. Наблюдалась тенденция к сравнительно более высоким показателям общего холестерина в присутствии аллеля 223Gln, но эти различия были статистически недостоверны – $p=0,08$.

Таблица 16 – Показатели обмена липидов у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением, при разных генотипах LEPR ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)

Изучаемый параметр	Генотип Arg223Arg	Генотипы Gln223Arg + Gln223Gln	p
n	44	70	
Общий Хс (ммоль/л)	5,49±0,33	6,26±0,31	0,08
ХсЛПНП (ммоль/л)	3,01±0,31	3,88±0,28	0,047
ХсЛПВП (ммоль/л)	1,13±0,06	1,03±0,05	0,3
Триглицериды (ммоль/л)	2,13±0,32	3,79±0,55	0,009

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

Была изучена также взаимосвязь уровней циркулирующего лептина, его растворимого рецептора и показателей липидограммы больных НАЖБП. Для этого проводили корреляционный анализ (табл. 17).

Таблица 17 – Коэффициенты корреляции (r_s) между Lep, sLep-R и показателями липидограммы у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением

Изучаемый параметр	Lep	sLep-R	Lep/sLep-R
Общий Хс	0,21	-0,15	0,19
ХсЛПНП	0,29*	-0,22	0,31*
ХсЛПВП	0,18	0,2	0,19
Триглицериды	0,35*	-0,19	0,37*

Примечание: * – достоверность коэффициента корреляции Спирмэна.

Как видно из данных таблицы, уровень лептина в крови имел прямую зависимость от показателей ХсЛПНП и триглицеридов – во всех случаях $p < 0,05$. Подобные взаимосвязи были характерны и для индекса свободного лептина, который также напрямую коррелировал с уровнем ХсЛПНП и ТГ и не зависел от концентрации в крови общего холестерина и значений ХсЛПВП. В то же время достоверных корреляций между показателями липидов и содержанием в крови sLep-R нам выявить не удалось. Найденные корреляции зависимости отражают взаимозависимость гиперлептинемии и лептинорезистентности с гиперлипидемией, связанной с липотоксичностью при НАЖБП [52, 290].

Итак, мы выявили связь аллеля 223Gln с повышенными уровнями ХсЛПНП и ТГ, а также прямую корреляционную зависимость этих показателей липидов с уровнями лептина и соотношения Lep/sLep-R.

4.1.2. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен углеводов

Известно, что одним из ключевых моментов патогенеза НАЖБП является инсулинорезистентность. При этом именно лептин способен влиять на восприимчивость гепатоцитов к сигналам инсулина, способствуя аккумуляции в клетках печени свободных жирных кислот, ведущей в итоге к инсулинорезистентности [290].

На рисунке 10 мы видим распределение встречаемости генотипов LEPR у больных НАЖБП с сахарным диабетом и при его отсутствии. Гомозиготный генотип Arg223Arg демонстрировал тенденцию к более частому присутствию у пациентов без СД (28 чел.), чем при его наличии, где доля этого генотипа составила 0,21 (6 чел.), однако эта разница оказалась статистически недостоверной – $p = 0,54$. Практически одинаково часто встречался

в этих группах гетерозиготный генотип Gln223Arg: 10 чел. из 28 пациентов с СД и 30 чел. из 86 больных, $p=0,11$. Гомозиготы Gln223Gln чаще определялись при СД – доля 0,43 (12 чел.), но достоверной разницы не было – $p=0,84$ (рис. 10).

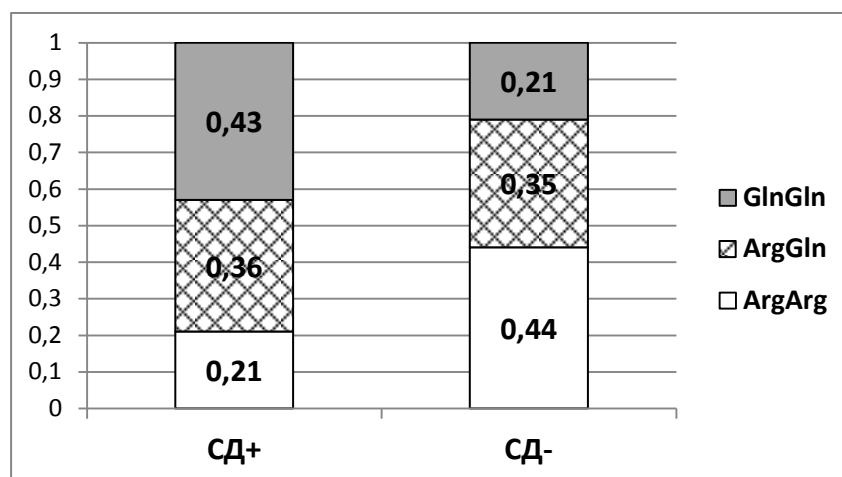


Рис. 10 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия сахарного диабета

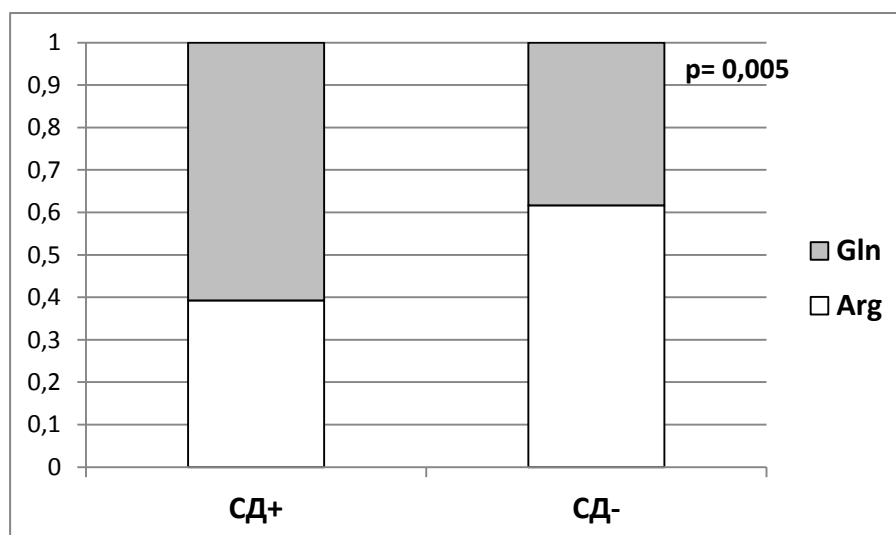


Рис. 11 – Распределение встречаемости аллелей 223Gln и 223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия сахарного диабета

В то же время анализ встречаемости аллеля 223Gln у больных НАЖБП в зависимости от наличия СД показал, что при наличии сахарного диабета этот аллель встречался чаще (доля – 0,6), чем у пациентов без СД – 0,38; $p=0,005$. Полученные данные, представленные на рис. 11, демонстрируют взаимосвязь аллеля 223Gln с развитием СД.

В таблице 18 представлены данные о содержании в крови лептина, его растворимого рецептора и индекса свободного лептина у больных НАЖБП, ассоциированной с ожирением, в зависимости от наличия сахарного диабета 2-го типа.

Таблица 18 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, в зависимости от наличия или отсутствия СД (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	СД+	СД-	p
n	28	86	
Лептин (нг/мл)	38,5 (27,8 – 60,9)	17,2 (8,8 – 44,3)	0,007
sLep-R (нг/мл)	16,35 (14,1 – 19,5)	19,85 (15,9 – 25,4)	0,035
Lep/sLep-R	2,57 (1,4 – 4,74)	0,84 (0,39 – 2,74)	0,006

Примечание: p – достоверность различий между больными НАЖБП с наличием и отсутствием СД, критерий Манна-Уитни.

При имеющемся у пациентов СД уровни лептина были выше, а концентрация sLep-R ниже, чем у лиц без диабета. Коэффициент Lep/sLep-R у больных с диабетом соответственно превышал аналогичный показатель пациентов с отсутствием СД.

Был проведен корреляционный анализ между показателями Lep, растворимого рецептора и индекса свободного лептина и параметрами углеводного обмена. Мы нашли положительную корреляционную связь между уровнем в крови лептина и значениями НОМА-индекса – $r_s=0,39$, $p=0,028$, а также индексом свободного лептина и НОМА-индексом – $r_s=0,32$, $p=0,041$. Это характеризовало тесную связь лептина с состоянием инсулинорезистентно-

сти. Достоверных корреляций между лептином, sLep-R, соотношением Lep/sLep-R, с одной стороны, и показателями глюкозы и инсулина натощак нам выявить не удалось.

Таким образом, у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением, аллель 223Gln чаще встречался у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом. Наличие СД у больных НАЖБП сопровождалось повышенными показателями лептина, индекса свободного лептина и сниженными уровнями растворимого рецептора лептина. Имелась прямая зависимость между содержанием в крови лептина, соотношением Lep/sLep-R и значениями НОМА-индекса.

4.1.3. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и биохимические синдромы

Мы проанализировали активность цитолитических ферментов в группах пациентов с различными генотипами гена рецептора лептина. Полученные данные представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Активность цитолитических ферментов в зависимости от полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)

Генотипы LEPR	АлАТ (Ед/л)	АсАТ (Ед/л)
Arg223Arg (n=44)	49,3±7,5	46,7±8,2
Gln223Arg (n=40)	53,5±7,4	50,4±6,9
Gln 223Gln (n=30)	59,8±9,2	48,3±8,9

Примечание: n – количество наблюдений.

Как видно из данных таблицы, показатели активности цитолитических ферментов у пациентов с разными генотипами Gln223Arg гена LEPR практически не различались. Кроме того, проведенный корреляционный анализ между уровнями лептина в крови и показателями биохимической активности – значениями цитолитических ферментов (АлАТ и АсАТ) – также не показал наличие зависимостей. Также не было отмечено корреляционных взаимосвязей между активностью аминотрансфераз и показателями содержания в крови sLep-R и соотношением Lep/ sLep-R.

У 17 пациентов с наличием холестатического синдрома генотипы LEPR распределились следующим образом: Arg223Arg – 6 чел. (0,35), Gln223Arg – 7 чел. (0,41), Gln223Gln – 4 чел. (0,24). Это распределение соответствовало таковому по всей группе пациентов с НАЖБП, что не позволяло делать выводы о взаимосвязи синдрома холестаза и полиморфизма гена LEPR. Не отмечалось также прямых зависимостей между активностью ЩФ, ГГТ, с одной стороны, и содержанием в крови лептина и его растворимого рецептора, с другой.

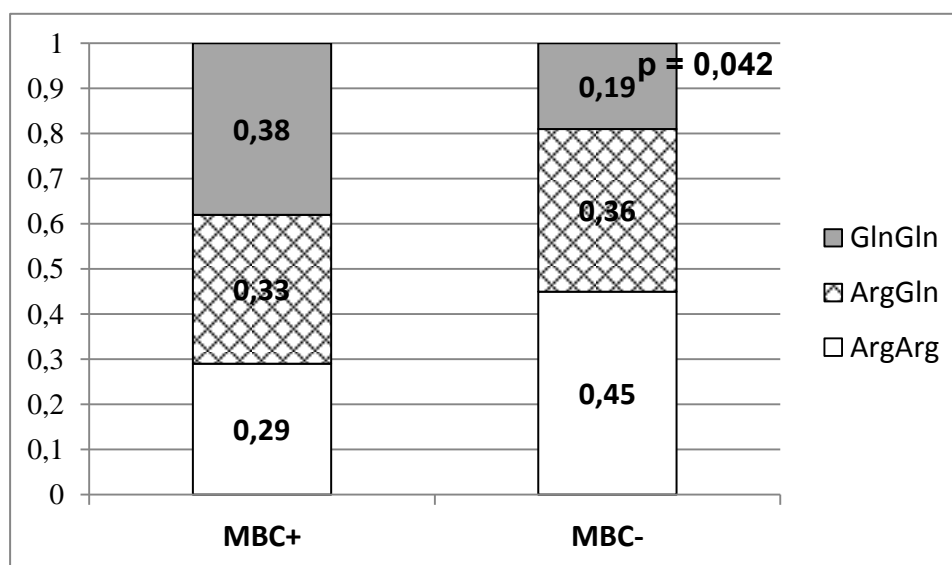


Рис. 12 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия мезенхимально-воспалительного синдрома

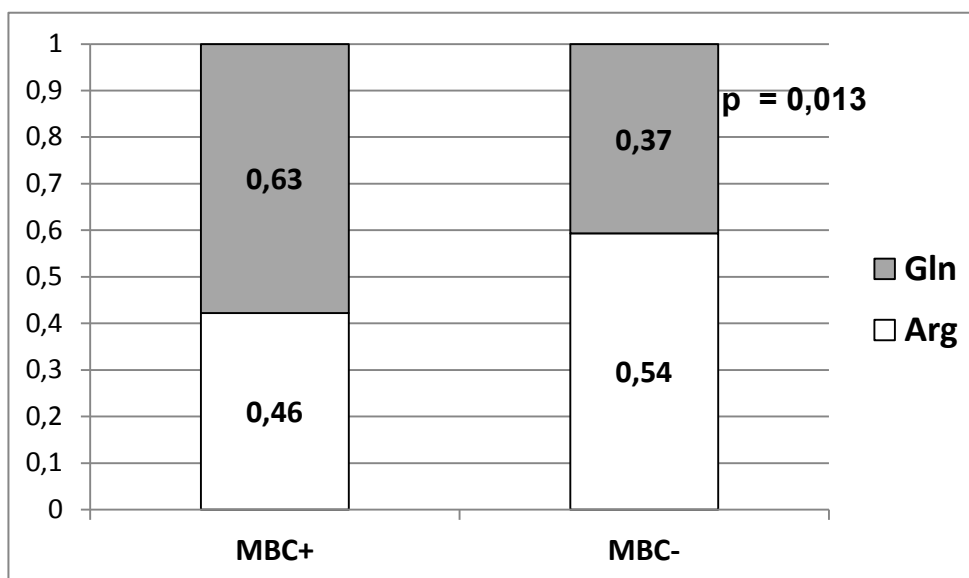


Рис. 13 – Распределение встречаемости аллелей 223Gln и 223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия мезенхимально-воспалительного синдрома

Было изучено влияние мезенхимально-воспалительного синдрома на полиморфизм LEPR (рис. 12 и 13).

На рисунке 12 можно увидеть, что достоверное различие было выявлено между частотами Gln223Gln генотипа LEPR у больных НАЖБП (45 чел.) с наличием и отсутствием синдрома мезенхимального воспаления ($p = 0,042$). Однако другие генотипы в этих группах пациентов встречались с неразличимой частотой: Arg223Arg – $p = 0,12$, а Gln223Arg – $p = 0,09$. Ожидаемо, аллель 223Gln встречался чаще при наличии MBS – $p = 0,013$ (рис. 13).

Были выявлены также различия в содержании в крови лептина и его растворимого рецептора в зависимости от присутствия у пациента синдрома мезенхимального воспаления (табл. 20).

При наличии синдрома мезенхимального воспаления у пациентов с НАЖБП отмечались более высокие показатели лептина и индекса свободного лептина, чем при отсутствии MBS. При этом, содержание sLep-R у этих пациентов было относительно низким.

Таблица 20 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, в зависимости от наличия или отсутствия МВС (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	МВС+	МВС-	p
n	45	69	
Лептин (нг/мл)	49,3 (17,6 – 59,2)	13,25 (8,55 – 27,8)	0,0003
sLep-R (нг/мл)	16,1 (14,0 – 19,0)	20,05 (15,85 – 23,4)	0,041
Lep/sLep-R	2,95 (0,9 – 4,05)	0,74 (0,34 – 1,44)	0,0005

Примечание: p – достоверность различий между больными НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия мезенхимально-воспалительного синдрома, критерий Манна-Уитни.

Таким образом, нами было установлено, что частота распределения генотипов Gln223Arg гена LEPR не зависела от активности ферментов цитолиза и наличия синдрома холестаза. В то же время, МВС был ассоциирован с большей частотой генотипа Gln223Gln и аллеля 223Gln. Синдромы цитолиза и холестаза не показывали взаимосвязи с содержанием в крови лептина и его растворимого рецептора, а при синдроме мезенхимального воспаления имелось повышение лептина, снижение его растворимого рецептора и сравнительно высокие значения индекса свободного лептина.

4.1.4. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и данные ультразвукового исследования

Было проанализирована зависимость частот полиморфизмов гена рецептора лептина от полученных данных ультразвукового исследования печени. Нами изучена связь выраженности стеатоза от генотипов LEPR, так как известна ассоциация тяжелого стеатоза с мутантными вариантами гена [259].

Как показано в таблице 21, у пациентов с НАЖБП, имеющих выраженный стеатоз по данным УЗИ (2-й и 3-й ст.), имелась тенденция к увеличению

доли генотипа Gln223Gln LEPR, но эти данные оказались статистически недостоверными – $p = 0,07$. Однако при этом оказалось, что аллель 223Gln был ассоциирован с выраженными ультрасонографическими признаками стеатоза.

Таблица 21 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от выраженности стеатоза при УЗИ

Генотипы и аллели	Стеатоз 1-й степени (n=40)	Стеатоз 2-й и 3-й степени (n=74)	p
Генотипы LEPR			
Arg223Arg	0,47 (n=19)	0,34 (n=25)	0,21
Gln223Arg	0,38 (n=15)	0,34 (n=25)	0,15
Gln223Gln	0,15 (n=6)	0,32 (n=24)	0,07
Аллели Arg и Gln			
223Arg	0,66 (n=53)	0,51 (n=75)	0,033
223Gln	0,34 (n=27)	0,49 (n=73)	

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с НАЖБП с разной степенью стеатоза печени.

Кроме того, мы проанализировали распространенность генотипов гена LEPR в зависимости от показателей эластометрии печени.

Анализ долей различных генотипов Gln223Arg LEPR в зависимости от выраженности показателей эластометрии печени показал, что гомозиготный генотип Arg223Arg чаще встречался у пациентов с невыраженным фиброзом печени, а фиброз F 3-4 стадии был ассоциирован с аллелем 223Gln – $p = 0,048$ (табл. 22).

Таблица 22 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от данных эластометрии печени

Генотипы и аллели	Фиброз F 1-2 ст. (n=85)	Фиброз F 3-4 ст. (n=29)	p
Генотипы LEPR			
Arg223Arg	0,43 (n=37)	0,21 (n=6)	0,048
Gln223Arg	0,33 (n=28)	0,41 (n=12)	0,44
Gln223Gln	0,24 (n=20)	0,38 (n=11)	0,2
Аллели Arg и Gln			
223Arg	0,6 (n=102)	0,41 (n=24)	0,02
223Gln	0,4 (n=68)	0,59 (n=34)	

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с НАЖБП с разной степенью фиброза печени.

Известно, что лептин играет важную роль в патогенезе жировой дистрофии печени. Было изучено содержание в крови больных НАЖБП лептина и его растворимого рецептора в связи с выраженностью стеатоза по данным УЗИ.

Таблица 23 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП, в зависимости от степени стеатоза при УЗИ печени (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	Стеатоз 1-й ст.	Стеатоз 2-й и 3-й ст.	p
n	40	74	
Лептин (нг/мл)	13,2 (8,85 – 32,0)	44,8 (22,5 – 49,3)	0,02
sLep-R (нг/мл)	20,3 (19,15 – 25,8)	16,7 (15,0 – 20,6)	0,064
Lep/sLep-R	0,61 (0,4 – 1,7)	2,9 (1,2 – 2,95)	0,012

Примечание: p – достоверность различий между группами больных НАЖБП с разной степенью стеатоза печени, критерий Манна-Уитни.

Из данных таблицы 23 следует, что при стеатозе 2-й и 3-й степеней содержание в крови больных лептина было выше, чем у пациентов с минимальной выраженностью стеатоза. Также у пациентов с выраженным стеатозом индекс свободного лептина превышал достоверно подобный коэффициент лиц с незначительной жировой дистрофией. В то же время, уровень растворимого рецептора лептина в этих группах практически не различался.

Было проведено изучение уровня лептина, sLep-R и соотношения Lep/sLep-R в зависимости от показателей эластометрии, характеризующих стадию фиброза (табл. 24). В крови больных НАЖБП с тяжелым фиброзом концентрация лептина была выше, а sLep-R ниже, чем у пациентов с фиброзом не выше 2-й стадии по METAVIR. Соответственно у пациентов с продвинутым фиброзом индекс свободного лептина был также повышен.

Таблица 24 – Содержание лептина и sLep-R в крови больных НАЖБП в зависимости от данных эластометрии печени (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	Фиброз 1-2 ст. по METAVIR	Фиброз 3 и 4 ст. по METAVIR	p
n	85	29	
Лептин (нг/мл)	20,55 (8,7 – 41,75)	54,3 (41,75 – 64,7)	0,0032
sLep-R (нг/мл)	19,85 (16,3 – 24,95)	15,1 (13,45 – 16,4)	0,0017
Lep/sLep-R	1,05 (0,37 – 2,82)	3,5 (2,28 – 4,74)	0,0015

Примечание: p – достоверность различий между группами больных НАЖБП с разной степенью фиброза печени, критерий Манна-Уитни.

Таким образом, анализ взаимосвязи результатов УЗИ печени и долей полиморфизмов LEPR показал, что генотип Arg223Arg сопутствовал фиброзу 1-й и 2-й стадии, а аллель 223Gln чаще встречается при стеатозе 2-й и 3-й степени и фиброзе 3-й и 4-й стадии. Содержание лептина и соотношение Lep/sLep-R были выше у пациентов со стеатозом 2-й и 3-й степени и у лиц с продвинутым фиброзом, а стадии фиброза 1 и 2 по METAVIR были ассоциированы со сравнительно высокими уровнями sLep-R.

4.1.5. Частота полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина, содержание в крови лептина и его растворимого рецептора у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и результаты гистологического исследования

Как уже сообщалось в главе 2, 37 пациентам была выполнена пункционная биопсия печени. Распределение генотипов LEPR в подгруппе пациентов с биопсией печени было следующим: Arg223Arg – 12 чел. (частота 0,33), Gln223Arg – 14 чел. (частота 0,38) и Gln223Gln – 11 чел. (частота 0,29). Это соответствовало в целом распределению частот генотипов во всей группе пациентов с НАЖБП, участвующих в нашем исследовании.

Был произведен анализ зависимости частот ПЕН LEPR в этой подгруппе пациентов в зависимости от данных гистологического анализа. Полученные данные представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Распределение частот полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от данных гистологического исследования печени

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

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

Из данных таблицы 25 следует, что при разной выраженности стеатоза печени доля различных генотипах LEPR достоверно не различалась. Вероятно, это могло быть обусловлено малыми количествами лиц в подгруппах. Тем не менее, аллель 223Gln при максимально выраженном стеатозе встречался достоверно чаще.

У пациентов с минимальным и умеренным фиброзом доли генотипов ПЕН гена рецепторов лептина не различались достоверно, хотя и отмечалась тенденция к более частой встречаемости генотипа Gln223Gln и аллеля 223Gln у больных НАЖБП с фиброзом F3. Видимо это было обусловлено небольшим количеством пациентов с продвинутым фиброзом, а также отсутствием в данной подгруппе фиброза F4.

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

Аналогичные зависимости мы видели и при сопоставлении выраженности фиброза в печеночных биоптатах и содержания в крови лептина и его растворимого рецептора (рис. 15). При фиброзе стадии F 1-2 концентрация Lep в крови была ниже (9,3 (8,4 – 30,6) нг/мл), а уровень sLep-R (20,4 (18,8 – 26,2) нг/мл), наоборот, выше, чем при фиброзе стадии F 3 – соответственно 49,3 (24,5 – 58,5) нг/мл и 15,9 (13,7 – 16,7) нг/мл. Это ожидаемо приводило к более высокому индексу свободного лептина (2,95 (1,2 – 4,2)) при продвинутом фиброзе стадии F 3 по сравнению с аналогичным показателем при стадиях фиброза печени F 1-2 – 0,5 (0,3 – 1,5); $p = 0,0003$.

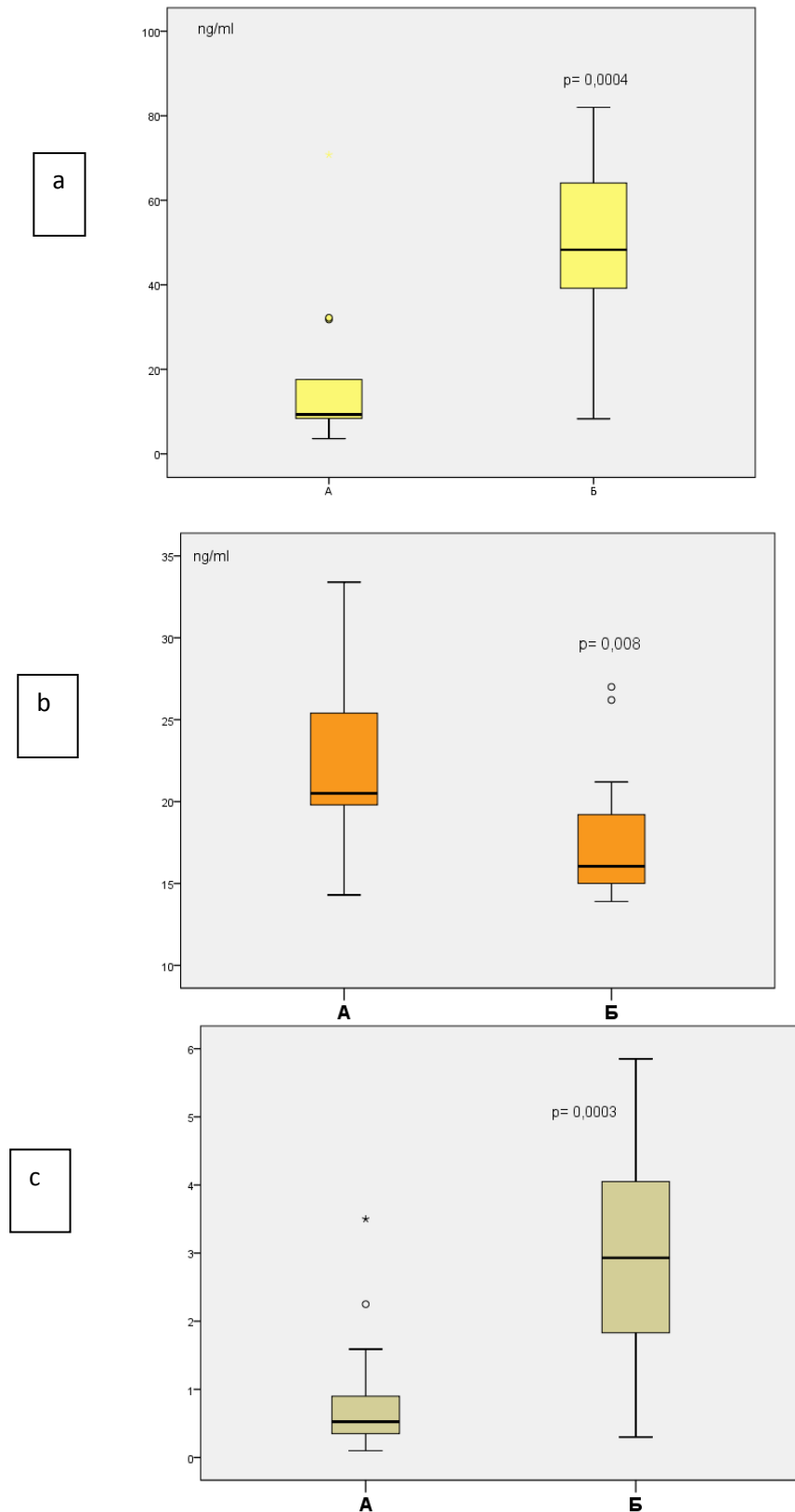


Рис. 14 – Содержание лептина (а), sLep-R (б) и соотношение Lep/sLep-R (с) у пациентов с НАЖБП с 1-й степенью стеатоза (А) и стеатозом 2-й и 3-й степени (Б)

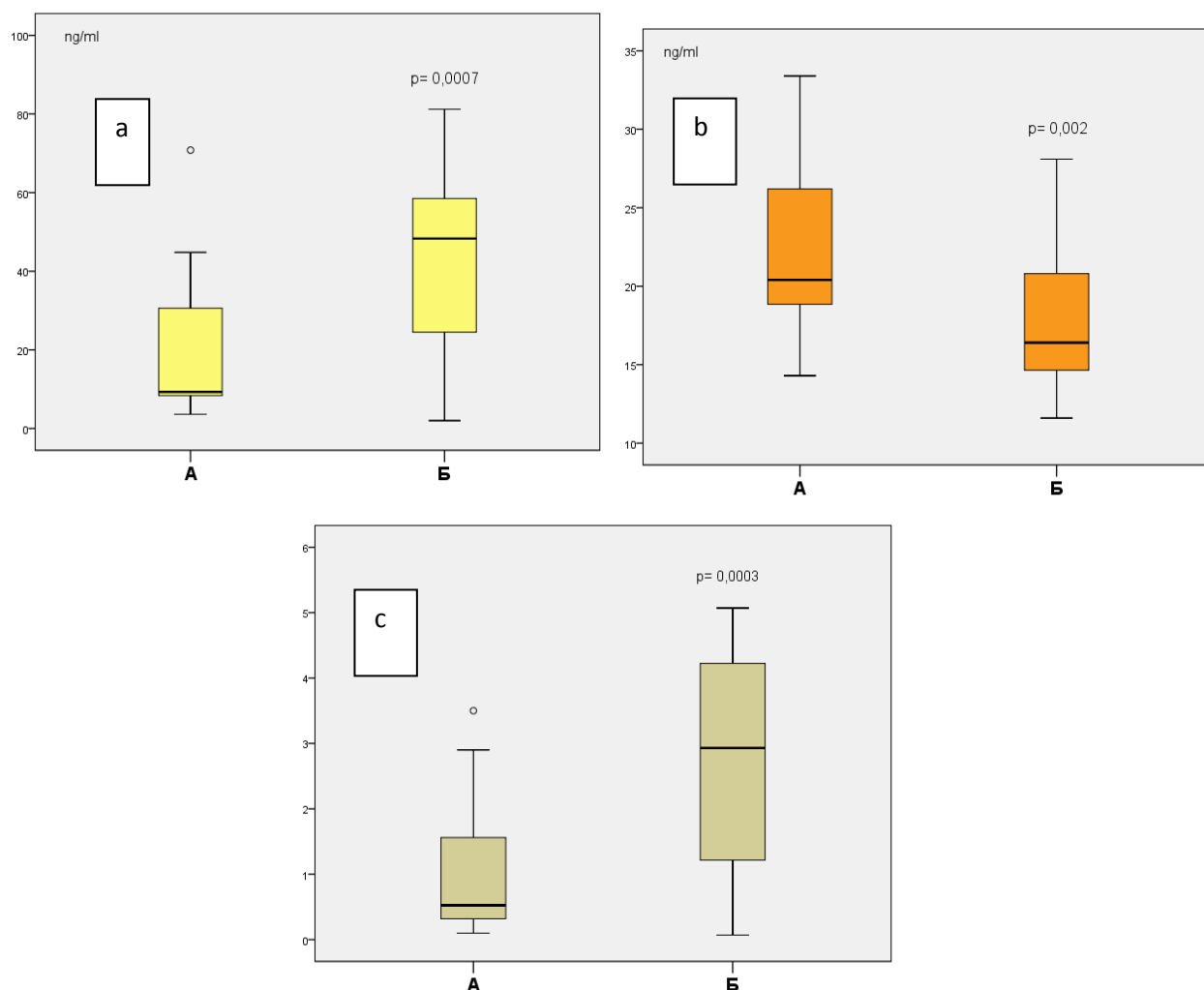


Рис. 15 – Содержание лептина (а), sLep-R (b) и соотношение Lep/ sLep-R (c) у пациентов с НАЖБП со стадией фиброза F 1-2 (А) и фиброзом F 3 (Б)

Одним из важных направлений в разработке методов диагностики НАЖБП является поиск новых параметров для неинвазивной диагностики фиброза печени. С помощью ROC-анализа были определены пороговые уровни лептина, sLep-R и Lep/sLep-R, которые могли прогнозировать вероятность тяжелого фиброза печени. Для фиброза стадии F 3 и выше были характерны концентрации Lep выше 32,2 нг/мл, sLep-R – ниже 18,5 нг/мл и соотношения Lep/ sLep-R – выше 2,9. Соответственно значения AUC составили 0,8, 0,77 и 0,83. Нами была изучена прогностическая ценность определенных пороговых критериев, полученные данные приведены в таблице 26.

Таблица 26 – Прогностическая значимость уровней Lep, sLep-R и соотношения Lep/sLep-R в крови для неинвазивной диагностики фиброза

II и III стадий у больных НАЖБП

Найденные пороговые уровни	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Ac (%)
Lep \geq 32,2 нг/мл	68,4	83,3	81,2	71,4	75,6
sLep-R \leq 18,5 нг/мл	64,7	83,3	78,5	71,4	70,2
Lep/sLep-R \geq 2,9	63,6	86,6	87,5	61,9	72,9

Для вычисленных пороговых значений ОШ составили: для лептина – 10,8 (2,2 – 52,1), для рецептора – 9,1 (1,8 – 44,9), а для индекса свободного лептина – 11,3 (2,0 – 63,7).

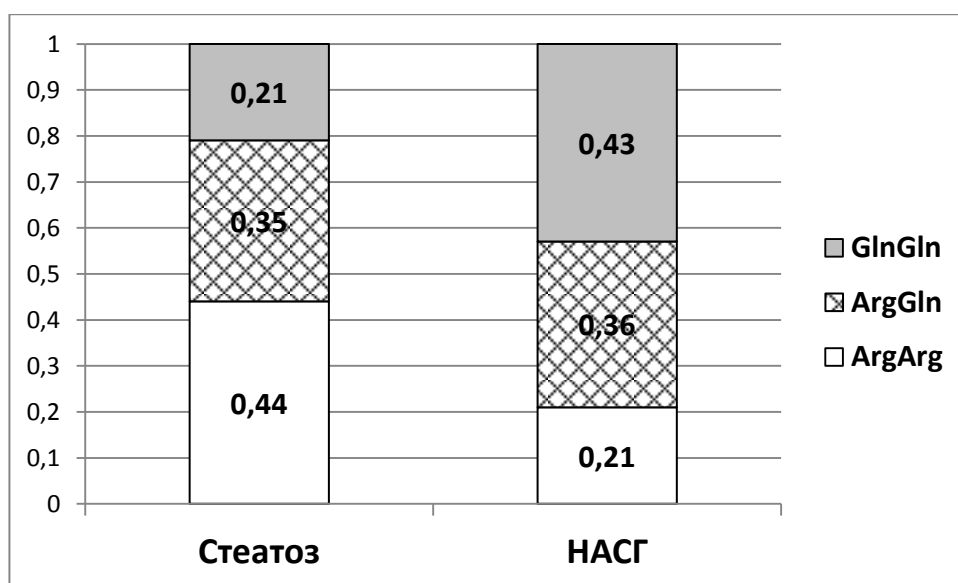


Рис. 16 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gln223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия признаков НАСГ в биоптатах печени

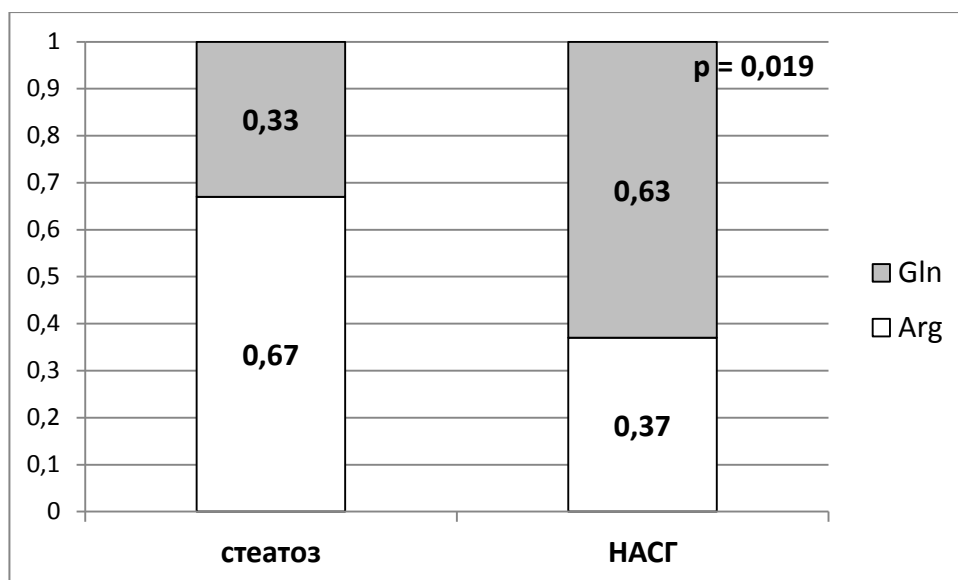


Рис. 17 – Распределение встречаемости аллелей 223Gln и 223Arg гена LEPR у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия признаков НАСГ в биоптатах печени

Для клиники важным является выявление неинвазивных маркеров НАСГ, так как пункционная биопсия этих пациентов не всегда возможна из-за наличия противопоказаний и сопутствующих заболеваний. Мы изучили распространенность ПЕН гена рецептора лептина в зависимости от наличия признаков неалкогольного стеатогепатита в биоптатах. Анализ долей различных генотипов LEPR показал, что достоверных различий в подгруппах пациентов с НАСГ и со стеатозом не было (рис. 16), однако у больных со стеатогепатитом чаще встречался аллель 223Gln по сравнению с лицами с простым стеатозом печени (рис. 17).

Из данных таблицы 27 следует, что наличие в биоптатах печени пациентов признаков НАСГ было связано с повышенными уровнями лептина и индекса свободного лептина, а также со снижением в крови уровня sLep-R сравнительно с пациентами с простым стеатозом печени.

Таблица 27 – Содержание лептина и sLep-R в крови пациентов с НАЖБП, в зависимости от наличия или отсутствия признаков НАСГ в биоптатах печени (Me (Q1- Q3))

Исследуемый параметр	Стеатоз	Неалкогольный стеатогепатит	p
n	18	19	
Лептин (нг/мл)	12,5 (8,4 – 31,8)	49,3 (23,5 – 57,8)	0,003
sLep-R (нг/мл)	20,4 (18,5 – 25,4)	15,9 (13,9 – 16,7)	0,004
Lep/sLep-R	0,61 (0,34 – 1,59)	2,95 (1,23 – 4,05)	0,001

Примечание: p – достоверность различий между группами больных со стеатозом и с НАСГ по данным биопсии печени, критерий Манна-Уитни.

Далее мы вычислили методом ROC-анализа пороговые уровни лептина, sLep-R и Lep/ sLep-R, прогнозирующие морфологические признаки НАСГ в печеночных биоптатах. Полученные значения оказались аналогичными характеристикам фиброза стадии \geq F 3: Lep \geq 32,2 нг/мл (AUC = 0,76), sLep-R \leq 18,5 нг/мл (AUC = 0,75) и отношения Lep/sLep-R \geq 2,9 (AUC = 0,78). Здесь надо отметить, что среди наших пациентов с диагностированным стеатогепатитом все имели фиброз F2 или F3 стадии. Была определена прогностическая ценность вычисленных пороговых уровней изученных нами параметров (табл. 28).

Таблица 28 – Прогностическая значимость вычисленных уровней Lep, sLep-R и соотношения Lep/ sLep-R в крови для неинвазивной диагностики НАСГ у больных НАЖБП

Найденные пороговые уровни	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Ac (%)
Lep \geq 32,2 нг/мл	73,6	77,7	77,7	73,7	75,7
sLep-R \leq 18,5 нг/мл	77,7	78,9	77,7	78,9	78,3
Lep/sLep-R \geq 2,9	72,7	86,7	88,9	68,4	78,3

Показатель ОШ для лептина оказался равным 9,8 (2,16 – 44,3), для sLep-R – 13,1 (2,7 – 62,8) и для Lep/sLep-R – 17,3 (2,9 – 100,6).

Ниже приведен клинический пример, иллюстрирующий значение полученных нами данных.

Клинический пример 1.

Больная Б.Г.Р., 1961 г.р. ИРК № 56. Находится под наблюдением в гастроэнтерологическом отделении ГБУЗ СК «СККБ» с мая 2013 г.

Диагноз: Неалкогольная жировая болезнь печени – стеатоз печени, с минимальной степенью биохимической активности. Синдром инсулинорезистентности. Ожирение 1-й степени (ИМТ-33,5 кг/м²). Сопутствующие заболевания: Гипертоническая болезнь, 2-я стадия, 2-я степень. Хронический гастрит, обострение, хронический дуоденит, вне обострения, Хеликобактер пилори – негативные. ЖКБ: хронический калькулезный холецистит вне обострения.

Жалобы: чувство тяжести в правом подреберье, больше выраженное после еды, повышенную утомляемость.

Анамнез: считает себя больной с 2012 года, примерно за год до обращения в СККБ, когда появились вышеуказанные жалобы. В поликлинике по месту жительства было обнаружено повышение активности аминотрансфераз до 1,5 норм. При УЗИ найдены признаки неалкогольной жировой болезни печени – гепатомегалия, выраженное повышение эхогенности паренхимы. Получала гепатопротекторы без особого эффекта. Массу тела снизить не удавалось, несмотря на предпринимаемые попытки диетических ограничений. В 2014 г. – госпитализация в гастроэнтерологическое отделение ГБУЗ СК «СККБ».

Объективно: Общее состояние удовлетворительное. Нормальная окраска кожи и слизистых. Отмечается пальмарная эритема. Ожирение 1-й степени. Со стороны сердечно-сосудистой системы: незначительная приглушенность тонов сердца. АД – 130/80 мм рт. ст. (принимает лозартан 100 мг/сут постоянно), пульс 78 в 1 минуту. Со стороны органов пищеварения: увеличение живота за счет избыточной подкожной жировой клетчатки, гепатомегалия – нижний край печени из-под реберной дуги +2 см, пальпаторно гладкий, уплотненный. Селезенка не пальпируется.

Анкетирование: смещанный тип нарушения пищевого поведения – экстернальный и эмоциональный.

Данные лабораторных исследований: Общий анализ крови и мочи – без патологии. Из биохимии: общий билирубин 16,2 мкмоль/л, прямой билирубин 3,6 мкмоль/л, АлАТ 49 Ед/л, АсАТ 36 Ед/л, ЩФ 97 Ед/л, ГГТП 71 Ед/л, общий белок 80,5 г/л, альбумин 41,2 г/л, мочевины 4,1 ммоль/л. Глюкоза 5,9 ммоль/л (нарушенная гликемия натощак), через 2 часа после углеводной нагрузки 7,0 ммоль/л, инсулин 20,5 мкМЕ/мл, НОМА-IR 5,37. Общий холестерин 5,04 ммоль/л, ЛПНП 2,75 ммоль/л, ЛПВП 0,89 ммоль/л, триглицериды 2,29 ммоль/л. С-реактивный белок 5,4 мг/л. ПТИ 99%, АЧТВ 23,5 сек, фибриноген 3,9 г/л. α -фетопротеин 4,2 МЕ/мл. Иммунологическое исследование: ANA, AMA-M2, anti-LKM, SMA не обнаружены. Маркеры HBV и HCV – инфекций не выявлены.

Данные инструментальных исследований:

УЗИ органов брюшной полости: Правая доля печени 169 мм, левая доля печени 83 мм. Контуры ровные. Передний край печени закруглен. Паренхима диффузно неоднородной, её эхоструктуры, повышенной эхогенности, средней звукопроводимости. Стеатоз 2-й степени. Сосудистый рисунок паренхимы обеднен. Диаметр портальной вены 11 мм, селезеночной вены 7 мм. Внутрипеченочные желчные протоки не расширены, общий желчный проток – 6 мм. Желчный пузырь: деформирован перегибом, размеры 98 × 31 мм, стенки толщиной до 3 мм, в просвете его полигональный подвижный конкремент до 25-30 мм и мелкий конкремент до 5 мм. Поджелудочная железа: головка 29 мм, тело 16,5 мм, хвост 24 мм. Контуры неровные, волнистые, четкие. Эхоструктура паренхимы диффузно повышенной эхогенности. Селезенка: размерами 105 × 55 мм, обычной эхоструктуры.

Эластометрия печени – 7,1 кПа.

ЭГДС: Заключение: поверхностный гастрит. Умеренная деформация луковицы двенадцатиперстной кишки. Дуодено-гастральный рефлюкс. Уреазный тест отрицательный.

Биопсия печени: Дольковое строение печени не нарушено. Скудная лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов (минимальное портальное воспаление). Портальные тракты несколько фиброзированы. Лобулярный компонент более выражен в 3-й зоне дольки и захватывает менее двух областей. Повреждение печеночных клеток (баллонная дистрофия) незначительная. При окраске Мэсона трихромом фиброз минимального характера, определяется в 3-й зоне и перисинусоидально. Очаговая крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов умеренной степени выраженности (менее 66%). Пролiferация билиарных протоков отсутствует. Заключение: Стеатоз печени. Степень стеатоза 2. Индекс фиброза 1. NAS-score 3 балла.

Специальные исследования: Генотип гена рецептора лептина – Gln223Arg (присутствие неблагоприятного аллеля). Содержание в крови лептина – 53,8 нг/мл (повышено), sLep-R – 15,9 нг/мл (снижено), индекс Lep/ sLep-R – 3,4 (повышен).

Данный клинический пример демонстрирует стеатоз печени 2-й ст., по данным УЗИ и морфологического исследования, при наличии неблагоприятного аллеля 223Gln, а также ассоциацию значимого стеатоза печени с повышением уровней плазменного лептина и снижения циркулирующего рецептора лептина.

Таким образом, сопоставление результатов ПЕН гена рецептора лептина с данными гистологического исследования биоптатов печени показало, что аллель 223Gln чаще встречается при стеатозе 2-й и 3-й степени. При НАСГ чаще встречался аллель 223Gln по сравнению с лицами со стеатозом

печени. У пациентов с НАЖБП при стеатозе 2-й и 3-й степени и фиброзе II и III стадий, а также при неалкогольном стеатогепатите повышены уровень лептина в крови и индекс свободного лептина, а содержание растворимого рецептора снижено сравнительно с больными с минимальной выраженностью стеатоза и фиброза печени. Прогностическим критерием наличия у больного фиброза II и III стадий и неалкогольного стеатогепатита оказались значения лептина более 32,2 нг/мл, растворимого рецептора лептина менее 18,5 нг/мл и индекса свободного лептина более 2,9.

4.2. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением

У всех обследованных нами пациентов с НАЖБП, а также у лиц контрольной группы, был изучен ПЕН гена FTO. Полученные результаты представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП и здоровых лиц

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

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

Из данных, представленных в таблице 29, видно, что у пациентов с НАЖБП чаще наблюдался генотип АА (rs9939609) FTO-гена, чем в группе сравнения среди здоровых лиц с нормальной массой тела. Гомозиготный генотип ТТ, наоборот, чаще встречался в контрольной группе. В то же время доли гетерозиготного варианта гена FTO ТА в обеих группах практически не различались. Минорный аллель А соответственно чаще встречался в группе больных НАЖБП по сравнению со здоровыми.

Таблица 30 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от половой принадлежности

Генотипы и аллели	Женщины (n=56)	Мужчины (n=58)	p
Генотипы FTO			
ТТ	0,51 (n=29)	0,62 (n=36)	0,35
ТА	0,25 (n=14)	0,17 (n=10)	0,43
АА	0,23 (n=13)	0,21 (n=12)	0,70
Аллели Т и А			
Т	0,64 (n=72)	0,71 (n=67)	0,37
А	0,36 (n=40)	0,29 (n=82)	

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

Как видно из данных, представленных в таблице 30, доли генотипов FTO не различались у мужчин и женщин. Также не было отличий встречаемости аллелей Т и А у пациентов с НАЖБП в зависимости от половой принадлежности.

Мы не обнаружили и возрастных различий в частотах ПЕН Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП. Так доли генотипов ТТ, ТА и АА составили соответственно: 1-й период зрелости – 0,49, 0,27 и 0,24; 2-й период зрелости – 0,46, 0,26 и 0,28; пожилой возраст – 0,47, 0,25 и 0,22.

Для анализа влияния полиморфизма гена FTO на ИМТ мы разделили пациентов на 2 подгруппы: 1-я подгруппа – избыточная масса тела + ожирение 1-й степени (64 чел.), 2-я подгруппа – ожирение 2-й и 3-й степеней (50 чел.).

Гомозиготный вариант по минорному аллелю А (генотип АА) чаще встречался у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степеней (табл. 31).

Таблица 31 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от ИМТ

Генотипы и аллели	Избыточная масса тела + ожирение 1-й степени (n=64)	Ожирение 2-й и 3-й степеней (n=50)	p
Генотипы FTO			
ТТ	0,72 (n=46)	0,38 (n=19)	0,0005
ТА	0,16 (n=10)	0,28 (n=14)	0,16
АА	0,12 (n=8)	0,34 (n=17)	0,011
Аллели Т и А			
Т	0,8 (n=102)	0,52 (n=52)	0,00002
А	0,2 (n=26)	0,48 (n=48)	

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

Генотип ТТ, наоборот, в 1-й подгруппе наблюдался гораздо чаще, чем во второй. В то же время доли гетерозиготного варианта ТА практически не

различались – соответственно. Выраженное ожирение (≥ 2 -й степени) с высокой степенью достоверности было ассоциировано с аллелем А, доля которого у этих лиц составила 0,48, тогда как у пациентов 1-й подгруппы она была равна 0,2. Эти данные подтверждают тесную связь ПЕН гена FTO rs9939609 с ожирением.

Итак, у пациентов с НАЖБП чаще встречается генотип FTO AA и аллель А, а генотип TT определяется реже, чем в контрольной группе. Доли генотипов не зависели от пола и возраста больных, но у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степени чаще наблюдали генотипы AA, аллель А и реже генотип TT.

4.2.1. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен липидов

Для изучения влияния ПЕН FTO на липидный обмен пациенты были разделены на 2 подгруппы: лица с генотипом TT и суммарно гетерозиготный генотип ТА и гомозиготный AA. Анализ показателей в этих подгруппах показал, что у больных с неблагоприятными генотипами FTO отмечалось сравнительно более высокое содержание триглицеридов в крови, чем у лиц с генотипом TT (табл. 32).

Таблица 32 – Показатели обмена липидов у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением, при разных генотипах FTO ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)

Изучаемый параметр	Генотип TT	Генотипы ТА+AA	p
n	65	49	
Общий Хс (ммоль/л)	5,73±0,34	6,05±0,35	> 0,1
ХсЛПНП (ммоль/л)	3,21±0,29	3,76±0,27	> 0,05
ХсЛПВП (ммоль/л)	1,18±0,3	1,03±0,22	> 0,1
Триглицериды (ммоль/л)	2,16±0,23	3,92±0,56	0,006

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с различными генотипами FTO.

Также наблюдалась тенденция (недостовверная) к повышению уровня ХсЛПНП. Не было обнаружено различий в других показателях липидограммы в сравниваемых подгруппах – общего холестерина и ХсЛПВП.

Таким образом, мы обнаружили зависимость влияния ПЕН FTO rs9939609 на возникновение гипертриглицеридемии, что может способствовать аккумуляции липидов в печени.

4.2.2. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и обмен углеводов

Была изучена взаимосвязь полиморфизмов гена FTO с развитием сахарного диабета. Выяснилось, что у пациентов, имевших сахарный диабет 2-го типа (28 чел.), реже встречался благоприятный генотип ТТ, чем у больных без СД (рис. 18). Частоты распространенности генотипов ТА и АА статистически достоверно не различались, но при этом аллель А чаще наблюдался в группе пациентов с НАЖБП, имеющих СД (доля составила 0,5), то есть у половины пациентов. У больных НАЖБП, не имевших сопутствующего сахарного диабета, встречаемость аллеля А составила 0,27 ($p = 0,002$).

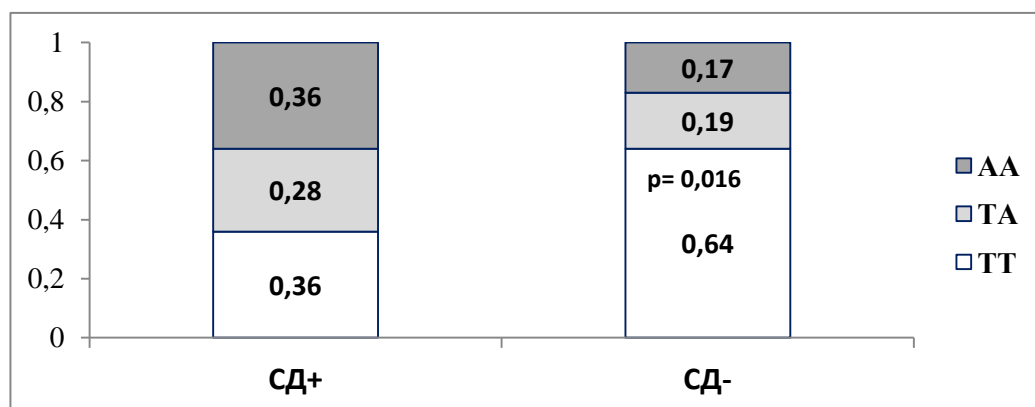


Рис. 18 – Доли генотипов FTO-гена у пациентов с НАЖБП с сахарным диабетом или без него

Из данных таблицы 33 следует, что при наличии у больных генотипов FTO, содержащих минорный аллель А, содержание инсулина натощак и показатели НОМА-индекса были выше, чем у пациентов с генотипом ТТ. Однако при этом уровень гликемии хоть и имел тенденцию сравнительно высоких значений в суммарной подгруппе больных с генотипами ТА и АА, но это различие оказалось недостоверным.

Таблица 33 – Показатели обмена углеводов у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением, при разных генотипах FTO (Me (Q1 - Q3))

Изучаемый параметр	Генотип ТТ	Генотипы ТА+АА	р
n	65	49	
Глюкоза (ммоль/л)	5,72 (4,9 – 6,9)	6,85 (5,8 – 7,4)	0,07
Инсулин натощак (мкМЕ/мл)	15,6 (10,9 – 16,8)	27,16 (17,7 – 30,0)	0,003
НОМА-индекс	4,21 (3,7 – 4,8)	5,6 (4,2 – 8,0)	0,015

Примечание: n – количество наблюдений, р – достоверность различий между пациентами с различными генотипами FTO.

Таким образом, ПЕН FTO rs9939609 влиял на состояние углеводного обмена. Наличие аллеля А сопровождалось повышенными уровнями инсулина и высокими значениями НОМА-индекса. Развитие сахарного диабета чаще было ассоциировано с аллелем А, а для лиц с НАЖБП без СД 2 был характерен генотип ТТ.

4.2.3. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, биохимические синдромы

Было изучены показатели активности цитолитических ферментов у пациентов с НАЖБП в зависимости от генотипа FTO rs9939609 (табл. 34). Не было обнаружено статистически значимых различий в активности сыворо-

точных трансаминаз у пациентов НАЖБП, ассоциированной с ожирением, в зависимости от ПЕН гена FTO.

Таблица 34 – Активность цитолитических ферментов в зависимости от генотипа FTO rs9939609 у пациентов с НАЖБП ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)

Генотипы FTO	АлАТ (Ед/л)	АсАТ (Ед/л)
ТТ (n= 65)	47,4±6,8	45,7±6,3
ТА (n= 24)	54,8±8,9	49,7±8,5
АА (n= 25)	61,9±9,3	51,2±9,2

Примечание: n – количество наблюдений.

Доли генотипов FTO у больных с признаками холестатического синдрома были распределены следующим образом: ТТ – 0,52 (9 чел.), ТА – 0,24 (4 чел.), АА – 0,24 (4 чел.). Это достоверно не различалось от распределения генотипов по всей группе пациентов с жировой болезнью печени.

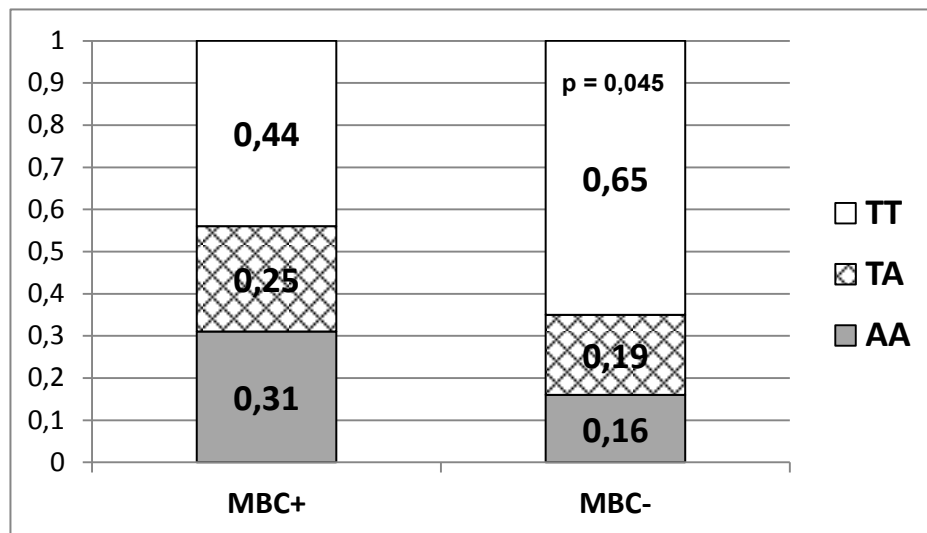


Рис. 19 – Доли генотипов FTO-гена у пациентов с НАЖБП с наличием и отсутствием мезенхимально-воспалительного синдрома

На рисунке 19 представлены результаты анализа частоты встречаемости ПЕН FTO rs9939609 у больных НАЖБП в зависимости от наличия синдрома MBC. Оказалось, что благоприятный генотип ТТ реже наблюдался у

пациентов с наличием признаков МВС (0,44 – 20 чел.), чем у больных без признаков мезенхимального воспаления (0,65 – 45 чел.), $p = 0,045$. При этом аллель А чаще встречался и, соответственно, аллель Т – реже у пациентов с МВС, чем при отсутствии этого синдрома (рис. 20).

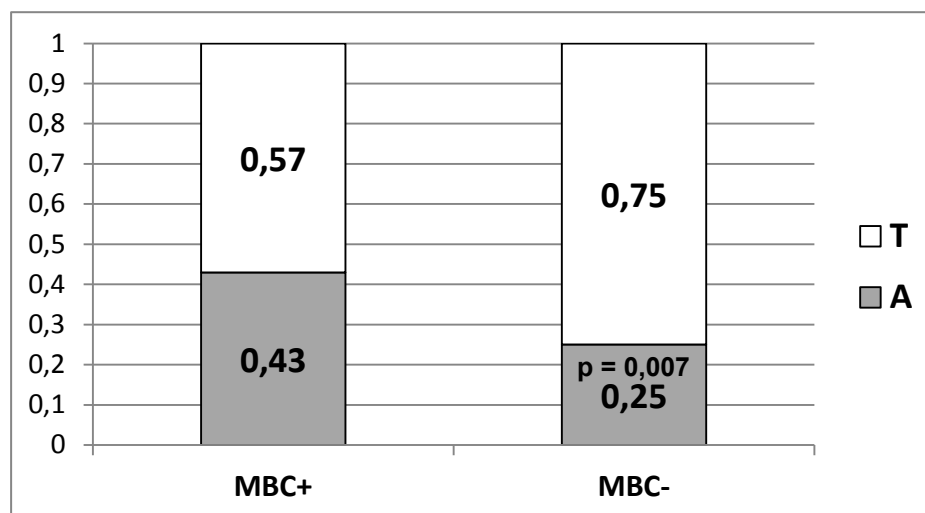


Рис. 20 – Распределение встречаемости аллелей Т и А гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия мезенхимально-воспалительного синдрома

Таким образом, активность цитолитических ферментов не зависела от ПЕН FTO rs9939609, а также этот полиморфизм не влиял на возникновение холестаза. Генотип ТТ наблюдали реже, а аллель А чаще при наличии синдрома мезенхимального воспаления.

4.2.4. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и данные ультразвукового исследования

Известно, что полиморфизм гена FTO тесно связан с обменом липидов и их кумуляцией в печени [60, 97, 113]. Мы изучили зависимость ПЕН гена FTO и выраженность стеатоза печени по данным УЗ-исследования. В табли-

це 35 показано, что частота встречаемости генотипов при различной степени стеатоза достоверно не различалась, хотя при выраженном стеатозе (2-й и 3-й степеней) наблюдалась тенденция к реже наблюдаемому генотипу ТТ. В то же время, минорный аллель А чаще наблюдали при выраженном стеатозе.

Табл. 35 – Распределение частот и аллелей полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от степени стеатоза при УЗИ

Генотипы и аллели	Стеатоз 1-й ст. (n=40)	Стеатоз 2-й и 3-й степени (n=74)	p
Генотипы FTO			
ТТ	0,7 (n=28)	0,5 (n=37)	0,062
ТА	0,18 (n=7)	0,23 (n=17)	0,34
АА	0,12 (n=5)	0,27 (n=20)	0,12
Аллели Т и А			
Т	0,79 (n=63)	0,61 (n=91)	0,012
А	0,21 (n=17)	0,39 (n=57)	

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с НАЖБП с разной степенью стеатоза печени.

Дополнительно был проведен анализ зависимости частоты различных генотипов гена FTO от данных, полученных при проведении эластометрии печени (табл. 36).

Из данных таблицы следует, что достоверно генотипы FTO при разной стадии фиброза практически не различались. Тем не менее, аллель А все же чаще встречался у пациентов с тяжелым фиброзом 3-й и 4-й степеней, определенным методом эластометрии – $p = 0,03$.

Таким образом, мы выявили, что минорный аллель А гена FTO чаще наблюдали при выраженном стеатозе 2-й и 3-й степеней и фиброзе 3-й и 4-й стадий, выявляемыми при УЗ-исследовании.

Таблица 36 – Распределение частот и аллелей полиморфизма полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от данных эластометрии печени

Генотипы и аллели	Фиброз F 1-2 (n=85)	Фиброз F 3-4 (n=29)	p
Генотипы FTO			
ТТ	0,62 (n=53)	0,41 (n=12)	0,079
ТА	0,19 (n=16)	0,28 (n=8)	0,46
АА	0,19 (n=16)	0,31 (n=9)	0,26
Аллели Т и А			
Т	0,71 (n=122)	0,57 (n=32)	0,03
А	0,29 (n=48)	0,43 (n=26)	

Примечание: n – количество наблюдений, p – достоверность различий между пациентами с НАЖБП с различными стадиями фиброза печени.

4.2.5. Частота полиморфизма гена FTO rs9939609 у больных неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, и результаты гистологического исследования

У 37 пациентов с НАЖБП с выполненной биопсией печени проанализированы доли генотипов FTO rs9939609 в зависимости от морфологических данных. Частота полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO в этой группе пациентов составила: ТТ – 0,49 (18 чел.), ТА – 0,27 (10 чел.), АА – 0,24 (9 чел.). В целом это соответствовало распределению генотипов по всей нашей выборке пациентов с НАЖБП.

Анализ зависимости частот генотипов FTO от степеней выраженности стеатоза и фиброза печени представлены в таблице 37.

Таблица 37 – Распределение полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от данных гистологического исследования печени

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

Примечание: n – количество наблюдений, * – достоверность различий между пациентами сравниваемых групп, $p=0,01$.

Различий в долях генотипов FTO выявлено не было, это могло объясняться малыми выборками внутри группы. Минорный неблагоприятный аллель А чаще встречался у пациентов с выраженным стеатозом – 2-й и 3-й степеней. Не удалось выявить подобной зависимости относительно пациентов с НАЖБП и выраженным фиброзом F 3.

У 19 пациентов с диагностированным неалкогольным стеатогепатитом чаще наблюдался генотип АА (0,32) сравнительно со случаями стеатоза печени (0,17), однако эта тенденция оказалась статистически недостоверна из-за небольшого объема выборок (рис. 21).

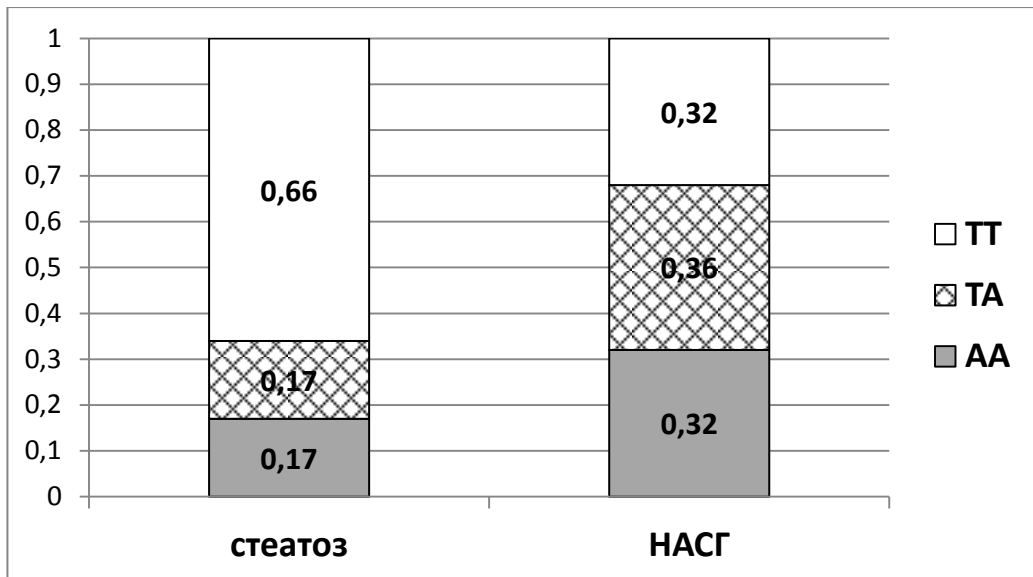


Рис. 21 – Распределение частот генотипов полиморфизма Т/А (rs9939609) гена FTO у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия признаков НАСГ в биоптатах печени

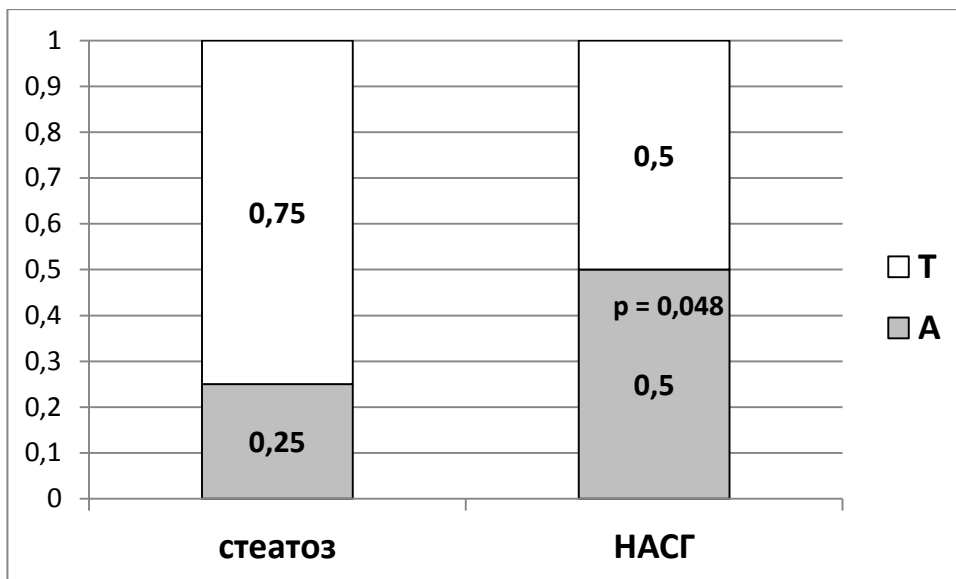


Рис. 22 – Распределение встречаемости аллелей Т и А гена FTO (rs9939609) у пациентов с НАЖБП в зависимости от наличия или отсутствия признаков НАСГ в биоптатах печени

Тем не менее, минорный аллель А встречался в 2 раза чаще при НАСГ и это различие было достоверным – $p = 0,048$ (рис. 22). Этот факт демонстри-

рует важную роль гена FTO в повышенной аккумуляции липидов в ткани печени, связанной с ней липотоксичностью и воспалением.

Таким образом, мы обнаружили, что неблагоприятный минорный аллель A у пациентов с НАЖБП, по данным гистологического исследования, был ассоциирован со стеатозом 2-й и 3-й степеней, а также с неалкогольным стеатогепатитом.

Приведем клинические примеры для иллюстрации полученных нами данных.

Клинический пример 2.

Больная Б.Н.Ф., 1953 г.р. ИРК № 85.

Первые обратилась в клинику в декабре 2012 г.

Диагноз: Неалкогольный стеатогепатит с умеренной степенью биохимической активности. Ожирение 1-й ст. Синдром инсулинорезистентности. Дискинезия желчевыводящих путей.

Жалобы: вздутие живота, периодические боли в правом подреберье ноющего характера, возникающие после приема пищи и при движении, периодически тошнота.

Анамнез: Болеет с 2012 г., когда стали беспокоить боли в правом подреберье, тошнота. В ходе обследования в районной поликлинике выявлено повышение трансаминаз до 60 Ед/л. Получала лечение по поводу дискинезии желчевыводящих путей с положительной динамикой – уменьшался болевой синдром. Однако показатели аминотрансфераз не снижались. Пациентке была предложена биопсия печени, от которой она отказалась. Неоднократно получала курсы гепатопротекторов (гептрал, эссенциале, фосфоглив, бициклол без положительной динамики). В сентябре 2013 г. консультировалась в ЦГБ г. Ростова-на-Дону, где был установлен диагноз неалкогольного стеатогепатита. В ходе обследования выяснилось, что показатели аминотрансфераз повышены до 160 Ед/л. Рекомендованная терапия без положительной динамики. В декабре 2013 г. пациентка обратилась в гастроэнтерологическое отделение ГБУЗ СК «СККБ» с целью проведения пункционной биопсии печени.

Объективно: Общее состояние удовлетворительное. ИМТ – 31 кг/м² – ожирение 1-й ст. Кожные покровы и слизистые без особенностей. Органы дыхания – без патологии. Со стороны сердечно-сосудистой системы – приглушенность тонов сердца, ЧСС – 88 в 1 минуту, АД 130/80 мм рт. ст. Отмечается увеличение живота из-за избыточной подкожно-жировой клетчатки, гепатомегалия (+ 1,5 см из-под реберной дуги, край ровный, поверхность гладкая, плотная). Селезенка не пальпируется. Стул и мочеиспускание без особенностей.

Анкетирование: эмоциональный тип нарушения пищевого поведения.

Данные лабораторных исследований: Общий анализ крови и мочи – без патологии. Из биохимии: белок общий 74 г/л, альбумин 48,3 г/л, билирубин общий 20,8 мкмоль/л, АЛАТ 213 Ед/л, АсАТ 104 Ед/л, ЩФ 91 Ед/л, ГГТ 88 Ед/л, амилаза 76 ед/л, мочевины 6,4 ммоль/л, креатинин 73 мкмоль/л. Глюкоза 5,4 ммоль/л, через 2 часа после углеводной нагрузки 7,2 ммоль/л, инсулин 15,1 мкМЕ/мл, НОМА-IR 3,6. Общий холестерин 5,9 ммоль/л, ЛПНП 2,8 ммоль/л, ЛПВП 0,91 ммоль/л, триглицериды 2,7 ммоль/л. Фибриноген 4,8 г/л, протромбиновый индекс 91%, АЧТВ 31 сек, протромбиновое время 12,8 сек. С-реактивный белок 19,0 мг/л. α -фетопротеин 4,7 МЕ/мл.

Иммунологическое исследование: ANA, AMA-M2, anti-LKM, SMA не обнаружены. Маркеры HBV и HCV – инфекций не выявлены.

Данные инструментальных исследований:

УЗИ органов брюшной полости: Доступ затруднен из-за метеоризма. Печень: положение в типичном месте, форма обычная, контуры четкие ровные, капсула дифференцируется хорошо. Толщина правой доли – 132 мм, КВР правой доли 148 мм, толщина левой доли печени 48 мм, ККР левой доли 109 мм, толщина хвостатой доли 18 мм. Звукопроводимость снижена. Эхогенность паренхимы повышена – стеатоз 3-й ст. Эхоструктура паренхимы диффузно неоднородная. В IV сегменте визуализируется гипозоногенная зона с достаточно ровными контурами, размерами 2,8 × 1,5 см, вероятно участок неизменной паренхимы. Сосудистый рисунок паренхимы обеднен по периферии. Портальная вена 9 мм, селезеночная вена 5 мм, печеночные вены 7 мм. Внутрипеченочные желчные протоки не расширены. Ширина просвета общего желчного протока 8 мм, визуализирован проксимальным отделом, на видимых участках без дополнительных включений в его просвете. Желчный пузырь обычно расположен, деформирован (с фиксированным S-образным перегибом в шеечном отделе), размерами 69 × 30 мм, стенки не утолщены, 2 мм, повышенной эхогенности, эхоструктура полости однородная. Поджелудочная железа: положение в типичном месте, визуализируется фрагментами из-за наложения петель кишечника, контуры ровные, четкие, толщина головки 25 мм, тела 15 мм, хвост прикрыт петлями кишечника. Эхогенность паренхимы повышена, вирусного протока не визуализирован. Селезенка в размерах не увеличена, контуры ровные, эхоструктура паренхимы однородная, эхогенность обычная.

Эластометрия печени: фиброз F2– 7,4 кПа.

Биопсия печени: Дольковое строение в печени не нарушено. На различную глубину долек проникает диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация в виде тонких мостовидных и ступенчатых некрозов. Отмечается расширение, фиброзирование портальных трактов. Лобулярный компонент распространен по всей дольке и захватывает более 4-х областей. Повреждение печеночных клеток (баллонная дегенерация) значительное. Баллонная дистрофия гепатоцитов сочетается с выраженной диффузной мелко-крупнокапельной жировой дистрофией (более 66%). Обнаружены перипортальные и порто-центральные фиброзные септы. Фиброз стенок центральных вен. Заключение: неалкогольный стеатогепатит. Степень стеатоза 3. Индекс фиброза 2. NAS-score 7 баллов.

Специальные исследования: Генотип гена рецептора лептина – Gln223Gln (пациентка гомозигота по неблагоприятному аллелю). Генотип FTO – TA (носитель неблагоприятного аллеля)

А). Содержание в крови лептина – 59,2 нг/мл (повышено), sLep-R – 13,4 нг/мл (снижено), индекс Lep/ sLep-R – 4,4 (повышен).

Данный клинический пример демонстрирует стеатоз печени 3-й ст., по данным УЗИ и морфологического исследования, при гомозиготном статусе по неблагоприятному аллелю 223Gln и генотипу ТА гена FTO. Обращает на себя внимание также развивающийся фиброз печени при неблагоприятных генетических маркерах. Имеется также ассоциация стеатоза 3-й степени с повышением уровней лептина и снижения циркулирующего рецептора лептина. Важное значение имеют также данные наличия стеатогепатита при высоких уровнях лептина, сниженном значении его растворимого рецептора и повышенном показателе индекса свободного лептина.

Продемонстрируем еще одно клиническое наблюдение с длительным последующим многолетним наблюдением за пациенткой.

Клинический пример 3.

Больная Г.В.Д., 1958 г.р. ИРК № 04.

Впервые обратилась в клинику в 2009 г.

Диагноз: Неалкогольный стеатогепатит с минимальной степенью биохимической активности, фиброз F3 по METAVIR. Сопутствующие заболевания: ПХЭС (холецистэктомия в 1998 г. по поводу желчнокаменной болезни): хронический билиарнозависимый панкреатит. Сахарный диабет 2-го типа. Ожирение 1 ст. (ИМТ – 32,5). Гипертоническая болезнь, 2-я стадия, 2-я степень. ХСН 0.

Жалобы: чувство тяжести в правом подреберье после приема жирной, жареной пищи, купируемое приемом ферментов, периодически полуоформленный стул с примесью непереваренной пищи, слабость, утомляемость.

Анамнез: Болеет с 1982 г., когда периодически стали беспокоить приступы желчной колики. В 1998 г. была выполнена холецистэктомия, после чего в течение нескольких лет самочувствие было удовлетворительным, а с 2002 г. начали беспокоить боли в эпигастрии и неустойчивый стул. С 2005 г. принимает панкреатические ферменты. В 2009 г. было впервые обнаружено повышение аминотрансфераз и поставлен диагноз неалкогольной жировой болезни печени. Принимала курсы фосфоглив, урсосан, гептрал. В апреле 2013 г. с целью уточнения диагноза для выполнения пункционной биопсии печени была госпитализирована в гастроэнтерологическое отделение Ставропольской краевой клинической больницы.

Объективно: Общее состояние удовлетворительное. Рост 154 см, масса тела 77 кг, ИМТ – 32,5 кг/м². Кожа и слизистые без особенностей. Имеется пальмарная эритема. Со стороны органов дыхания – без патологии. Со стороны сердечно-сосудистой системы; приглушенность тонов, ЧСС – 68 в 1 мин, АД – 140/90 мм рт. ст. Увеличение живота из-за чрезмерной подкожной жировой клетчатки. Отмечается пальпаторная болезненность в правом и левом подреберьях. Гепатомегалия: +3,5 см из-под реберной дуги, плотной консистенции, с заостренным краем, плотной и бугристой поверхностью. Селезенку пальпировать не удается. Стул, мочеиспускание без особенностей.

Анкетирование: смешанный тип нарушения пищевого поведения: эмоциональный и экстернальный.

Данные лабораторных исследований: Общий анализ крови и мочи – без патологии. Из биохимии: белок общий 71,4 г/л альбумин 37,5 г/л, билирубин общий 8,2 мкмоль/л, прямой 1,8 мкмоль/л, АлАТ 59,6 Ед/л, АсАТ 50,2 Ед/л, ЩФ 95 Ед/л, ГГТ 39 Ед/л, амилаза 60 ед/л, мочевины 6,4 ммоль/л, креатинин 73 мкмоль/л. Глюкоза 9,2 ммоль/л, через 2 часа после углеводной нагрузки 13,1 ммоль/л, инсулин 34,4 мкМЕ/мл, НОМА-IR 14. Общий холестерин 7,18 ммоль/л, ЛПНП 5,03 ммоль/л, ЛПВП 1,3 ммоль/л, триглицериды 2,7 ммоль/л. Фибриноген 4,8 г/л, протромбиновый индекс 102%, протромбиновое время 11,5 сек, АЧТВ 26 сек. С-реактивный белок 8,1 мг/л. α-фетопротеин 1,92 МЕ/мл.

Иммунологическое исследование: ANA, AMA-M2, anti-LKM, SMA не обнаружены. Маркеры HBV и HCV – инфекций не выявлены.

Данные инструментальных исследований:

УЗИ органов брюшной полости: Печень: правая доля – 141 мм, толщина левой доли печени 48 мм, левая доля 85 мм. Контуры печени волнистые. Диффузная неоднородность ткани печени, сниженная звукопроводимость. Значительно повышена эхогенность паренхимы – стеатоз 3-й ст. В проекции IV сегмента – образование средней эхогенности диаметром 12 мм (участок неизменной паренхимы). Сосудистый рисунок паренхимы обеднен по периферии. Воротная вена – 13 мм. Внутривенные желчные протоки не расширены, холедох – 6 мм. Отсутствует желчный пузырь (удален), ложе без особенностей. Поджелудочная железа: контуры ровные, нечеткие, структура диффузно неоднородная, эхогенность повышена. Головка поджелудочной железы 28 мм, тело 19 мм, хвост 24 мм. Вирсунгов проток 2 мм. Селезенка 95 мм × 40 мм, контуры ровные, четкие, паренхима однородная. Диаметр селезеночной вены 5 мм.

Эластометрия печени: фиброз F3 – 9,8 кПа.

ЭКГ: Синусовый ритм, ЧСС 67 в 1 мин. Горизонтальное положение ЭОС. Диффузные изменения в миокарде левого желудочка. Гипертрофия миокарда левого желудочка.

Консультация **эндокринолога**. Диагноз: Сахарный диабет 2-го типа. Ожирение 1-й степени. Дислипидемия/гипертриглицеридемия. Рекомендован прием метформина (Сиофор) 1000 мг на ночь.

Биопсия печени: Дольковое строение в печени не нарушено. Определяются мелкие склерозированные портальные тракты без инфильтрации. Множество тонких перипортальных и порто-

портальных фиброзных септ. Умеренный фиброз стенок печеночных вен. Перисинусоидальный фиброз. Лобулярный компонент распространен по всей дольке и захватывает более 3-4 областей. Имеется баллонная дистрофия гепатоцитов, а также выраженной диффузная крупнокапельная жировая дистрофия (более 66%). Обнаружены перипортальные и порто-центральные фиброзные септы. Фиброз стенок центральных вен. Заключение: Неалкогольный стеатогепатит. Степень стеатоза 3. Индекс фиброза 3. NAS-score 6 баллов.

Специальные исследования: Генотип гена рецептора лептина – Gln223Arg (пациентка имеет неблагоприятный аллель 223Gln). Генотип FTO – AA (гомозиготный вариант неблагоприятного аллеля A). Содержание в крови лептина – 64,1 нг/мл (повышено), sLep-R – 13,9 нг/мл (снижено), индекс Lep/ sLep-R – 4,61 (повышен).

Дальнейшее наблюдение: Далее пациентка наблюдалась в нашей клинике амбулаторно. Регулярно принимала метформин, статины, гепатопротекторы (чередовали курсами препараты урсодезоксихолевой кислоты, фосфоглив форте). Обращала на себя внимание сохраняющаяся активность трансаминаз до 1,5-2 норм, а также нарастающие значения показателей фиброза по данным эластометрии. В мае 2019 г. была проведена повторная биопсия печени, так как предполагалось участие пациентки в международном мультицентровом клиническом исследовании 3 фазы. При исследовании биоптата печени был выявлен сформировавшийся цирроз в исходе неалкогольного стеатогепатита, что явилось критерием исключения участия в клиническом исследовании. Далее на протяжении 1,5 лет практически постоянно принимала Бициклोल, что позволяло удерживать активность аминотрансфераз в пределах нормы. Биохимические показатели демонстрировали компенсированную функцию печени. Однако в декабре 2020 г., пациентка умерла от новой коронавирусной инфекции COVID-19, осложнившейся двухсторонней пневмонией.

Имеющиеся у пациентки неблагоприятные генотипы обоих исследуемых нами генов, высокие показатели лептина и индекса свободного лептина, сниженные уровни свободного рецептора лептина предрасполагали течение заболевания у данной больной к прогрессированию фиброза печени вплоть до развития цирроза печени на фоне выраженной жировой дистрофии паренхимы и активного стеатогепатита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время неалкогольная жировая болезнь печени становится одной из ведущих причин хронических заболеваний печени в мире. НАЖБП диагностируется примерно у 20-30% населения и рассматривается как печеночное проявление метаболического синдрома. Сдерживание роста населения, страдающего ожирением и диабетом, будет иметь важное значение для смягчения бремени жировой болезни печени [203].

Однако многие патогенетические моменты заболевания до сих пор не уточнены. Наибольший интерес представляет генетическая предрасположенность пациентов к ожирению и развитию жировой болезни печени, но многие аспекты влияния этих механизмов не уточнены. Мы в своем исследовании рассмотрели аспекты некоторых генетических полиморфизмов на влияние развития ожирения, резистентности к лептину и развитию НАЖБП.

По нашим данным, генотип Arg223Arg у больных НАЖБП с ожирением отмечался реже сравнительно с группой контроля – здоровыми людьми с нормальной массой тела. Одновременно доля гетерозиготного генотипа LEPR Gln223Arg обнаруживала тенденцию к большему числу, но статистической достоверности этих различий не было. Сравнительный анализ частот аллелей показал, что аллель 223Arg при НАЖБП отмечался реже, тогда как 223Gln, напротив, чаще, чем у здоровых лиц. Из литературы известно о значительной вариации распространенности ПЕН LEPR Gln223Arg в различных популяциях – от 32 до 58% [21, 22, 160, 209]. Особенно сильно разнятся данные о долях данного полиморфизма при ожирении, метаболическом синдроме и неалкогольной жировой болезни печени. Наши данные соответствуют результатам исследований ряда авторов, свидетельствующих о взаимосвязи ПЕН LEPR Gln223Arg с абдоминальным ожирением и метаболическим синдромом, отмечая при этом доминирование аллеля 223Gln в этой популяции [10, 43, 46, 276]. Другие исследователи получали противоположные результаты об ассоциации аллеля 223Arg [30, 270]. Китайские исследовате-

ли показали, что полиморфизмы LEPR Q223R могут представлять значительный риск развития НАЖБП и коронарного атеросклероза [162]. В то же время в некоторых работах вообще не находили связей между ожирением и полиморфизмом LEPR Gln223Arg [47, 156, 200, 234, 236].

У больных НАЖБП с ожирением уровень лептина в крови был повышен сравнительно со здоровыми лицами группы контроля. Параллельно содержание растворимого рецептора лептина в сыворотке крови при НАЖБП оказалось ниже, чем у здоровых лиц. Индекс свободного лептина, определяемый как соотношение $Lep/sLep-R$, почти втрое превышал нормальные значения. В известном большом мета-анализе было показано, что в преобладающем числе исследований отмечены повышенные уровни лептина при НАЖБП [65]. Повышенный уровень лептина в сыворотке крови также наблюдался в других крупных проспективных исследованиях НАЖБП [80, 226]. Считается, что $sLep-R$ регулирует биодоступность лептина путем связывания свободных циркулирующих его фракций [221]. Повышение индекса свободного лептина у пациентов может быть свидетельством имеющейся лептинорезистентности [52, 212]. Увеличенная продукция лептина наряду с низким уровнем $sLep-R$, может отражать высокую резистентность периферических тканей к эффектам лептина [52].

В нашем исследовании обнаружена выраженная отрицательная корреляция между значениями Lep и $sLep-R$ в нашей выборке пациентов, и этот факт может быть доказательством теории нарушения равновесия системы лептин – рецептор лептина. Другие исследователи сообщали о более значимом проявлении лептинорезистентности у пациентов с НАЖБП сравнительно с теми больными, которые имели ожирение без признаков стеатоза печени [52]. Известно также, что содержание в крови лептина при неалкогольном стеатогепатите повышено по сравнению со здоровыми лицами [155, 178], а концентрация $sLep-R$ значительно ниже при НАЖБП, чем у здоровых [52].

Имеются данные, что мутации в гене рецептора лептина увеличивают риски формирования неалкогольной жировой болезни печени [245, 247]. Бы-

ло изучено содержание в крови лептина и sLep-R в зависимости от определенных генотипов LEPR. У лиц с гомозиготным статусом Arg223Arg уровень лептина снижался сравнительно с пациентами, имеющими аллель Gln223 в моно- или в биаллельном варианте, а показатели рецептора лептина в этих подгруппах достоверно не отличались. Однако индекс свободного лептина, характеризующий лептинорезистентность при имеющемся аллеле 223Gln был выше, чем у гомозиготов с 223Arg. Есть данные, что снижению продукции рецептора лептина могут способствовать мутации гена этого рецептора. Было отмечено, что полиморфизмы в гене рецептора лептина связаны с риском возникновения НАЖБП [147, 259].

Распределение долей ПЕН гена LEPR у мужчин и женщин практически не отличалось. В то же время, у лиц женского пола, страдающих НАЖБП, уровень плазменного лептина был сравнительно повышен относительно больных мужчин, но при этом содержание sLep-R было практически одинаковым. Одновременно соотношение Lep/ sLep-R у женщин было выше подобного показателя мужчин. Полученные нами результаты о повышенных уровнях лептина у женщин подтверждаются данными других авторов [52, 212]. Различная продукция лептина у мужчин и женщин можно отчасти объяснить более высоким процентом содержания жира у женщин, а лептин, как известно, вырабатывается и экспрессируется в большей степени в жировой ткани [120]. Также это может быть частично связано с влиянием гормонов [261, 262], диетическими различиями [100] и перименопаузальным возрастом, который может усиливать факторы риска метаболического синдрома и способствовать более высокой заболеваемости у женщин [264]. Было выявлено, что отношение лептина к адипонектину было выше у женщин по сравнению с мужчинами, и что этот факт был связан с более высоким висцеральным ожирением [172]. В другом исследовании было показано, что даже после корректировки данных с учетом жировых отложений у женщин уровень лептина был выше, чем у мужчин [246].

Анализ распределения частот полиморфизмов LEPR Gln223Arg в зависимости от возраста больных не показал каких-либо различий, также не было возрастных зависимостей сывороточных уровней Lep и sLep-R.

Было обнаружено, что у больных со 2-й и 3-й степенями ожирения реже встречались генотипы Arg223Arg и Gln223Arg, а также чаще наблюдался аллель 223Gln по сравнению с лицами, у которых было диагностировано ожирение 1-й степени и избыточная масса тела. При этом 2-я и 3-я степени ожирения характеризовались сравнительно более высокими концентрациями в крови лептина и значениями индекса свободного лептина, чем в случаях пациентов с ИМТ не более 34,9 кг/м². Кроме того, содержание лептина в крови положительно коррелировало с ИМТ ($r_s = 0,31$). Выявленные корреляции подтверждают взаимосвязь гиперлептинемии с ожирением [52, 290]. Сообщалось, что лептинорезистентность чаще всего выявлялась у пациентов с морбидным ожирением и реже – с нормальной массой тела [221, 222].

Изучение зависимостей параметров липидограммы с вариабельностью генотипов LEPR выявило, что при наличии аллеля 223Gln (суммарно генотипы Gln223Arg и Gln223Gln) имеются повышенные значения ХсЛПНП и ТГ по сравнению с обладателями генотипа Arg223Arg. Имеются данные, что полиморфизм гена рецептора лептина ведет возникновению НАЖБП путем влияния на обмен липидов и чувствительность к инсулину [259]. Сообщали также, что полиморфизм Gln223Arg LEPR был связан с повышенным риском семейной комбинированной гиперлипидемии, которая ассоциирована с преждевременными сердечно-сосудистыми заболеваниями, опосредованными низким уровнем ХсЛПВП [270]. С другой стороны, у японских детей с ожирением полиморфизм Lys109Arg и Ser343Ser в гене LEPR, но не Gln223Arg или Pro1019Pro, имел значительные взаимосвязи с липидным профилем сыворотки крови [137]. В нашем исследовании была отмечена также положительная корреляционная связь между показателями ХсЛПНП и ТГ и значениями лептина и соотношения Lep/sLep-R, что подтверждало влияние лептина на нарушения липидного обмена.

Анализ долей генотипов LEPR в группах больных НАЖБП с сахарным диабетом и без него показал, что имелась тенденция к более редкому наличию гомозиготного генотипа Arg223Arg у пациентов с СД, но это различие было недостоверным. Однако все же аллель 223Gln при наличии сахарного диабета мы наблюдали чаще, чем у пациентов с НАЖБП без ассоциации с диабетом. Отмечалось, что полиморфизм LEPR приводит к печеночному стеатозу, изменяя чувствительность к инсулину [259]. У пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, осложненным НАЖБП, частота ПЕН гена LEPR, а также уровень инсулина, лептина, триглицеридов и ХсЛПНП были выше, чем у пациентов без НАЖБП и имеющих только нарушение толерантности к глюкозе. Был сделан вывод, что полиморфизм гена LEPR, вероятно, способствует возникновению НАЖБП, регулируя липидный обмен и влияя на чувствительность к инсулину [220].

В нашем исследовании ассоциации с СД у больных НАЖБП сопутствовали сравнительно повышенные значения лептина, индекса свободного лептина и пониженные показатели растворимого рецептора относительно случаев жировой болезни печени без наличия диабета. Одновременно была выявлена прямая связь между содержанием в крови лептина, а также индексом Lep/ sLep-R и показателями НОМА-индекса. Эти данные подтверждали возможность участия лептина в патогенезе как жировой болезни печени, так и сахарного диабета. Это подтверждают и другие исследователи. Так, концентрация лептина в сыворотке крови продемонстрировала ассоциацию с НАЖБП как у мужчин, так и у женщин с преддиабетом, и эта ассоциация была опосредована секреторной дисфункцией инсулина и инсулинорезистентностью [119]. Сывороточный лептин положительно коррелировал с уровнем инсулина и С-пептида у больных сахарным диабетом и НАЖБП, но не в контрольной группе [280].

Мы проанализировали зависимость изучаемых нами показателей от основных биохимических синдромов. Оказалось, что встречаемость генотипов Gln223Arg гена LEPR не показала связи с активностью цитолитических

ферментов и присутствием синдрома холестаза. Однако у лиц с наличием мезенхимально-воспалительного синдрома чаще встречались генотип Gln223Gln и аллель 223Gln. Соответственно при цитолитическом и холеста- тическом синдромах не отмечалось корреляций с содержанием в крови леп- тина и его растворимого рецептора. В то же время, МВС был ассоциирован с повышением уровня лептина, соотношением Lep/sLep-R, а также снижением в крови содержания sLep-R. Хорошо известно, что лептину свойственны про- воспалительные эффекты в разных моделях аутовоспалительных или имму- ноопосредованных воспалительных расстройств [161]. Лептин способствует экспрессии провоспалительных цитокинов, которые далее могут высвобож- дать лептин из адипоцитов [148]. Недавние исследования убедительно пока- зали, что жировая ткань с ее огромным содержанием медиаторов воспаления способна оказывать влияние на метаболически активными органами вне пе- чени [34, 48]. Висцеральная жировая ткань, являющаяся своеобразным резер- вуаром цитокинов, содержит огромное количество системно активных меди- аторов, таких как адипокины и цитокины. Эти медиаторы способствуют низ- кодифференцированному воспалению, наблюдаемому при тяжелом ожире- нии и связанных с ним расстройствах, таких как НАЖБП, и могут даже иг- рать роль в самом неблагоприятном осложнении этого расстройства, то есть развитии рака.

Изучение зависимости данных УЗ-исследования печени от варианта генотипа LEPR выявило, что гомозиготный генотип Arg223Arg чаще встре- чался при фиброзе 1-й и 2-й стадий, а аллель 223Gln наблюдался с больше частотой при значительном стеатозе (2-й и 3-й степени) и продвинутом фиб- розе (3-й и 4-й стадии). Известно из других исследований, что мутантный го- мозиготный и гетерозиготный генотип рецептора лептина и мутантный ал- лель были достоверно выше при легком и тяжелом стеатозе [259].

Нами также были получены данные о взаимосвязи уровней в крови лептина и его рецепторов в зависимости от параметров сонографии. Отмече- но, что концентрация в крови лептина и индекс Lep/sLep-R при минимальном

стеатозе были ниже сравнительно с больными со значительным стеатозом, а содержание циркулирующего рецептора в этих группах достоверно не отличалось. Наши результаты подтверждают сведения, что содержание лептина в крови больных НАЖБП увеличивалось параллельно с нарастанием степени стеатоза [264], а также факты, что повышенный уровень сывороточного лептина, по-видимому, является признаком стеатоза [245].

Наше исследование показало, что продвинутый фиброз при НАЖБП ассоциируется с высоким содержанием лептина и сниженным sLep-R по сравнению с пациентами с выраженностью фиброза не более 2 стадии по METAVIR. У больных НАЖБП с тяжелым фиброзом индекс свободного лептина был также сравнительно высоким. Наши данные подтверждают и клинические наблюдения других авторов. Так, уровни лептина для низких, промежуточных и высоких значений NFS (NAFLD fibrosis score) прогрессирующе нарастали. Эта связь оставалась значимой даже после корректировки на известные демографические и метаболические факторы риска [264]. Важно отметить, что эта зависимость была характерна только для НАЖБП, ассоциированной с ожирением, но не для НАЖБП худых людей. Имеются и противоположные сведения. R.A. Elbadawy и соавт. ранее отмечали, что лептин сыворотки крови нельзя использовать как неинвазивный маркер для предикции стеатоза и фиброза у пациентов с НАЖБП [280]. Выявление больных с установленным фиброзом или с высоким риском развития прогрессирующей болезни печени имеет решающее значение для эффективного вмешательства и предотвращения общей и связанной с ней заболеваемости и смертности [64].

Анализ взаимосвязи распространенности полиморфизмов гена рецептора лептина с данными гистологической картины биоптатов печени продемонстрировал, что у пациентов со стеатозом 2-й и 3-й степени чаще наблюдали аллель 223Gln. При этом отмечалась недостоверная статистически тенденция к увеличению частоты генотипа Gln223Gln и аллеля 223Gln при выраженном стеатозе и тяжелом фиброзе, а также аллеля 223Gln при продвину-

том фиброзе. Можно предположить, что при увеличении статистической выборке пунктированных пациентов эта тенденция может стать достоверной. У пациентов с диагностированным морфологически стеатогепатитом также чаще встречался аллель 223Gln, чем у больных с простым стеатозом печени.

В то же время оказалось, что в крови больных при диагностировании в биоптатах стеатоза 2-й и 3-й степени и стадий фиброза II и III выявляются сравнительно более высокие уровни лептина, сниженные показатели растворимого рецептора лептина, а соотношение Lep/sLep-R повышено относительно пациентов с НАЖБП с минимальной выраженностью стеатоза и фиброза печени. Из литературы известно, что повышенный уровень лептина в сыворотке крови коррелировал с тяжестью заболевания печени, то есть с количеством воспаления и фиброза [222]. Также сообщалось о корреляции между лептином и выраженностью стеатоза печени, а не с проявлениями воспаления и фиброза [247]. В эксперименте было показано, что изолированные звездчатые клетки печени продуцируют лептин, что указывало на то, что лептин может играть ключевую роль в профиброгенных реакциях в печени [153, 167]. Лептин, регулируя экспрессию TGF- β 1, приводит к активации звездчатых клеток, усиливая, таким образом, фиброгенный ответ в печени [153]. При этом в клиническом исследовании T.-P. Chen и соавт. было продемонстрировано, что метаболический синдром является фактором риска развития именно жировой дистрофии печени, но не высокого риска прогрессирования фиброза [187].

Развитие НАСГ у наших больных также сопровождалось повышением содержания в крови Lep, снижением sLep-R и увеличением индекса свободного лептина. Лептин может рассматриваться как провоспалительный цитокин [93, 165], поэтому его высокие уровни в крови при развитии воспаления в печени не удивительны и согласуются с данными других исследователей [155, 178, 248]. При этом связь воспаления в ткани печени не подтверждалась другими исследователями [247].

Используя метод ROC-анализа, нам удалось показать, что прогностическим критерием присутствия у больного фиброза II и III стадий и неалкогольного стеатогепатита оказались значения лептина более 32,2 нг/мл, растворимого рецептора лептина менее 18,5 нг/мл и соотношение Lep/sLep-R более 2,9. Эти результаты позволяют использовать изученные нами показатели как неинвазивные маркеры тяжелого фиброза печени и неалкогольного стеатогепатита.

Ген FTO играет важную роль в регуляции липидного и углеводного обменов. Известно, что мутации этого гена могут быть связаны с развитием ожирения и НАЖБП [2, 5, 124, 130, 235, 284]. В нашем исследовании было выявлено, что у пациентов с НАЖБП, ассоциированной с ожирением, чаще сравнительно со здоровыми лицами наблюдается генотип FTO (rs9939609) AA и реже генотип TT, а доли гетерозиготных носителей (TA) не различались. Неблагоприятный аллель A при наличии НАЖБП встречался чаще. Пол и возраст пациентов не влияли на частоты генотипов, однако имелась значительная зависимость от степени ожирения. Так у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степени преобладала доля генотипа AA, чаще встречался минорный аллель A и реже генотип TT, чем у лиц с избыточной массой тела и ожирением 1-й степени. Эти данные подтверждают влияние мутации гена FTO rs9939609 на развитие ожирения и возникновение НАЖБП.

Нами было выявлено, что у пациентов с НАЖБП, имеющими неблагоприятные генотипы FTO (суммарно гетерозиготный генотип TA и гомозиготный AA), отмечалось сравнительно более высокое содержание триглицеридов в крови, чем у лиц с генотипом TT, а также обнаружилась статистически недостоверная тенденция к повышению уровня ХсЛПНП. В то же время мы не увидели разницы в сравниваемых подгруппах в уровнях общего холестерина и ХсЛПВП. Наши результаты подтверждают экспериментальные и клинические данные о взаимосвязи между геном FTO и обменом липидов. Сообщалось, что экспрессия FTO в печени крыс коррелирует с экспрессией генов, регулирующих липидный обмен и контролирующих липогенез и окис-

ление жирных кислот, а сверхэкспрессия FTO ведет к повышению накопления липидов в клетках печени человека L02 и HepG2 [37, 113, 190].

Было обнаружено, что у больных с сопутствующим СД 2-го типа реже отмечался благоприятный генотип TT, чем у пациентов с НАЖБП без диабета. В то же время аллель А чаще встречался в группе больных НАЖБП, имеющих СД (частота составила 0,5), чем у лиц без сахарного диабета. Значимую ассоциацию минорного аллеля А FTO rs9939609 и риска СД 2-го типа наблюдали и другие исследователи у палестинского населения [68]. При этом в другом исследовании в Ираке было отмечено, что, напротив, наличие аллеля Т в двух олигонуклеотидных полиморфизмах – rs9939609 и rs17817449 гена FTO было ассоциировано с повышенным риском развития сахарного диабета 2-го типа у лиц с ожирением [126]. Для уточнения влияния полиморфизма гена FTO на обмен углеводов при НАЖБП мы провели анализ основных показателей углеводного обмена у пациентов двух подгрупп: 1-я – с генотипом TT, 2-я – с генотипами AA и TA. Оказалось, что при генотипах FTO, содержащих минорный аллель А, содержание в крови инсулина и показатели НОМА-индекса были выше, чем у пациентов с генотипом TT. При этом уровень гликемии хоть и имел тенденцию сравнительно высоких значений в суммарной подгруппе больных с генотипами TA и AA, но это различие оказалось не достоверным.

Анализ зависимости проявления основных биохимических синдромов от наличия ПЕН FTO rs9939609 продемонстрировал, что активность цитолитических ферментов не зависела от генотипа FTO. Кроме того, олигонуклеотидный полиморфизм не влиял на возникновение холестаза. Присутствие же у больных синдрома мезенхимального воспаления зависело от генотипа FTO. Генотип TT наблюдали реже, а аллель А чаще при наличии синдрома мезенхимального воспаления.

Анализ данных УЗ-исследования печени во взаимосвязи с ПЕН гена FTO показал, что частота встречаемости FTO-гена не различалась у пациентов с разными степенями стеатоза и фиброза печени. Однако минорный ал-

аллель А чаще встречался при стеатозе 2-й и 3-й степеней и фиброзе 3-й и 4-й стадий, выявленных при сонографии. Этот факт подтверждает важную роль гена FTO в развитии жировой болезни печени и согласуется с данными других исследователей [112].

Особое значение мы уделили связи генотипов FTO и результатов гистологического исследования. В небольших подгруппах, выделенных из числа всех биопсированных 37 пациентов, мы не смогли найти различия в частотах генотипов FTO в зависимости от степени стеатоза или фиброза печени. И все же оказалось, что неблагоприятный аллель А чаще выявлялся у пациентов с выраженным стеатозом – 2-й и 3-й степеней. Однако мы не смогли доказать подобной зависимости для больных НАЖБП с тяжелым фиброзом F 3. Есть мнение, что метаболический синдром и ожирение являются фактором риска развития жировой дистрофии печени, но не высокого риска прогрессирования фиброза [187].

Кроме того, у 37 пациентов, которым была проведена биопсия печени, проанализированы доли генотипов FTO-гена в зависимости от варианта НАЖБП – НАСГ или простого стеатоза. При стеатогепатите чаще встречался генотип AA сравнительно со случаями стеатоза печени, однако эта тенденция была статистически недостоверна из-за небольшого объема выборок. Тем не менее, аллель А встречался в 2 раза чаще при НАСГ и это различие было достоверным. Известно, что неалкогольный стеатогепатит характеризуется избыточным накоплением жира в печени, повышенной липотоксичностью в гепатоцитах и последующим воспалением. Экспрессия ассоциированного с жировой массой и ожирением гена FTO была значительно повышена как в печени пациентов с НАСГ, так и при моделировании стеатогепатита в эксперименте у грызунов, что позволило делать вывод, что повышенная активность данного гена может способствовать усилению повреждения печени при НАСГ. Предполагается, что дополнительным фактором повреждения здесь может служить липополисахарид, который индуцирует воспаление и приводит к нарушению липидного обмена печени [130, 198].

Возможность неинвазивной предикции НАСГ и выраженного фиброза печени имеет важное клиническое значение. Выявление больных с продвинутым фиброзом или с высоким риском развития прогрессирующей болезни печени имеет решающее значение для эффективного вмешательства и предотвращения общей и связанной с ней заболеваемости и смертности [64]. Наиболее эффективной и проверенной терапией для НАСГ является потеря веса. Анализ данных восьми рандомизированных контрольных исследований показал, что потеря веса $>5\%$ приводит к уменьшению стеатоза печени, а $\geq 7\%$ улучшает показатель воспаления NAS (показатель активности НАЖБП) [136]. Однако только 50% пациентов удается достичь потери веса на 7%. При этом отмечается, что потеря веса $\geq 10\%$ приводит к разрешению раннего фиброза примерно у 45% испытуемых [286]. Сочетание гипокалорийной диеты (снижение потребления на 500-1000 ккал в день) и упражнений средней интенсивности обеспечит наилучшую вероятность сохранения потери веса с течением времени [265].

Проведенные нами исследования позволили выявить взаимосвязь между изученными нами полиморфизмами гена рецептора лептина и гена FTO, уровнями лептина и его растворимого рецептора и клинической симптоматикой неалкогольной жировой болезни печени, ассоциированной с ожирением. Полученные данные позволят выявлять группы риска неблагоприятного прогрессирующего течения заболевания, индивидуализировать работу с пациентами. Важное значение будет иметь длительное мониторинговое наблюдение пациентов с выявленными неблагоприятными предикторами для пристального наблюдения за колебаниями их массы тела, динамики биохимических показателей и данных сонографии и эластометрии печени для индивидуализации терапевтических программ и своевременного выявления осложнений НАЖБП.

ВЫВОДЫ

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

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

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

4. Фиброз печени 1-й и 2-й стадий чаще встречается при генотипе Arg223Arg, а верифицированные ультразвунографически 3-я и 4-я стадии фиброза, 2-я и 3-я степени стеатоза печени чаще наблюдались у носителей аллеля 223Gln гена LEPR. Содержание лептина в крови и соотношение

Lep/sLep-R были выше у пациентов с умеренным/выраженным стеатозом и с продвинутым фиброзом, а стадии фиброза 1 и 2 ассоциированы со сравнительно высокими уровнями sLep-R в крови.

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

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

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

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

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

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Впервые выполненное диссертационное исследование, посвященное комплексному изучению гена рецептора лептина Gln223Arg и гена FTO, содержанию в крови лептина и его растворимого рецептора у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, ассоциированной с ожирением, дает основу для прогнозирования неблагоприятных детерминант заболевания (прогрессирующего фиброза, неалкогольного стеатогепатита).

Проведенное исследование не исчерпывает всей глубины проблемы мультифакторного патогенеза и генетической детерминантности неалкогольной жировой болезни печени. В комплекс изучения предрасположенности к тяжелому течению заболевания следует включать определение других адипокинов, а также изучение иных возможных полиморфизмов. Это может быть изучение полиморфизмов гена адипонектина 45TT и 276GT, гена PNPLA3, генов TNF- α и TGF- β , эндотоксинового рецептора CD14, ангиотензина II типа 1 и ряда других.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АГ – артериальная гипертензия
- АлАТ – аланиновая аминотрансфераза
- АсАТ – аспарагиновая аминотрансфераза
- АпоЕ – аполипопротеин Е
- ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза
- ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома
- ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЗК – звездчатые клетки
- ИЛ – интерлейкин
- ИМТ – индекс массы тела
- ИР – инсулинорезистентность
- ЛПВП – липопротеины высокой плотности
- ЛПНП – липопротеины низкой плотности
- ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности
- ЛР – лептинорезистентность
- МВС – мезенхимально-воспалительный синдром
- МС – метаболический синдром
- НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени
- НАСГ – неалкогольный стеатогепатит
- ОБ – объем бедер
- ОТ – объем талии
- ОШ – отношение шансов
- ПЕН – полиморфизм единичного нуклеотида
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РКИ – рандомизированные клинические исследования
- СД – сахарный диабет
- СПКЯ – синдром поликистозных яичников

ТГ – триглицериды

УДХК – урсодезоксихолевая кислота

УЗИ – ультразвуковое исследование

Хс – холестерин

ЦНС – центральная нервная система

ЩФ – щелочная фосфатаза

Ас – точность

AUC – площадь под кривой

FTO – ген, ассоциированный с массой тела и ожирением

GLP-1 – глюкагоноподобный пептид -1

НОМА-IR – модель оценки гомеостаза для инсулинорезистентности

Lep – лептин

Lep-R или Ob-R – рецептор лептина

LEPR – ген рецептора лептина

NAS-score – шкала активности стеатогепатита

NPV – отрицательная предсказательная ценность

PNPLA3 – пататин-подобный фосфолипазный домен 3/адипонутрин

PPV – положительная предсказательная ценность

ROC – операционная характеристика приемника

rs – референсный сиквенс

Se – чувствительность

sLep-R – растворимый рецептор лептина

Sp – специфичность

SREBP – стерол-регуляторный белок

TGF- β – трансформирующий фактор роста- β

TNF- α – фактор некроза опухоли- α

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алкогольные, лекарственные, генетические и метаболические заболевания / Ю.Р. Шифф, М.Ф. Соррел, У.С. Мэддрей; пер. с англ. под ред. Н. А. Мухина, Д. Т. Абдурахманова, Э. З. Бурневича [и др.]. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 480 с.
2. Ассоциация полиморфизма гена FTO с избыточной массой тела в российской популяции / Э.С. Насибулина, Р.Р. Шагимарданова, А.В. Борисова, И.И. Ахметов // Казанский медицинский журнал. - 2012. - Т. 93, № 5. - С. 823- 826.
3. Ахмедов, В.А. Генетические аспекты формирования неалкогольной жировой болезни печени / В.А. Ахмедов, Т.И. Меликов // Лечащий врач. - 2019. - № 8. - С. 28-31.
4. Буеверов, А.О. Неалкогольная жировая болезнь печени: обоснование патогенетической терапии / А.О. Буеверов, П.О. Богомоллов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. - 2009. - №1. - С.3-9.
5. Взаимосвязь RS9939609 полиморфизма гена FTO с метаболическим синдромом и его компонентами в Российской популяции / Н.В. Хромова, О.П. Ротарь, А.М. Ерина [и др.] // Артериальная гипертензия. - 2013. - Т. 19, № 4. - С. 311-319.
6. Вовк, Е.И. Неалкогольная жировая болезнь печени как проатерогенное заболевание: диагностика и лечение в общей практике / Е.И. Вовк // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. - 2017. - Т. 1, №2. - С. 68-79.
7. Гейвандова, Н.И. Сывороточные цитокины больных неалкогольной жировой болезнью печени и их взаимосвязь с выраженностью морфологических изменений / Н.И. Гейвандова, Н.Г. Белова, Г.А. Александрович // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2011. - №1. - С. 9-12.
8. Дедов, И.И. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, Г.Р. Галстян // Сахарный диабет. - 2016. - № 19 (2). - С. 104-12.

9. Драпкина, О.М. Неалкогольная жировая болезнь печени как мультидисциплинарная патология / О.М. Драпкина, А.О. Буеверов. - М.: Видокс, 2019. - 104 с.
10. Исследование ассоциации полиморфизма Gln223Arg гена рецептора лептина с ожирением и неалкогольной жировой болезнью печени / А.В. Морозова, Н.В. Мальцева, Я.А. Горбатовский [и др.] // Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2014. - № 3. - С. 49-57.
11. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации / В.Т. Ивашкин, М.В. Маевская, Ч.С. Павлов [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2016. - Т. 26, № 2. - С. 24 - 42.
12. Лавренова, Е.А. Инсулинорезистентность при ожирении: причины и последствия / Е.А. Лавренова, О.М. Драпкина // Ожирение и метаболизм. - 2020. - Т. 17, №1. - С. 48-55.
13. Лептинорезистентность, нерешенные вопросы диагностики / Д.А. Бородкина, О.В. Груздева, О.Е. Акбашева. [и др.]// Проблемы эндокринологии 2018. - Т. 64, №1. - С. 62—66.
14. Междисциплинарные клинические рекомендации «лечение ожирения и коморбидных заболеваний» / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, Г.А. Мельниченко [и др.] // Ожирение и метаболизм. - 2021. - Т. 18, №1. - С. 5-99.
15. Ожирение. Клинические рекомендации / И.И. Дедов, Н.Г. Мокрышева, Г.А. Мельниченко [и др.] // CONSILIUM MEDICUM. - 2021. - № 23 (4). - С. 311-325.
16. Плотникова, Е.Ю. Роль кишечной микрофлоры в формировании неалкогольной жировой болезни печени / Е.Ю. Плотникова, Т.Ю. Грачева, Е.А. Ержанова // Лечащий врач. - 2017. - № 2. - С.32-38.
17. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов амбулаторно-поликлинической практики в Российской Федерации: результаты исследования DIREG 2 / В.Т. Ивашкин, О.М. Драпкина, И.В. Маев

[и др.] // Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2015. - № 6. - С. 34-41.

18. Результаты многоцентрового двойного слепого рандомизированного плацебоконтролируемого пострегистрационного (IV фаза) клинического исследования «Гепард» (PHG-M2/P02-12) для оценки эффективности и безопасности комбинированного препарата глицирризиновой кислоты и эссенциальных фосфолипидов (Фосфоглив ®) при неалкогольной жировой болезни печени / В.Т. Ивашкин, И.Г. Бакулин, П.О. Богомолов [и др.] // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2017. - Т. 27, № 2. - С. 34-43

19. Роль эндотоксинемии в развитии неалкогольного стеатогепатита / Н.И. Гейвандова, А.В. Ягода, Г.Г. Бабашева, З.В. Нигиян // Российские медицинские вести. - 2015. - Т. 20, № 2. - С.41-46.

20. Содержание адипонектина в крови при стеатогепатитах различного генеза / Н.И. Гейвандова, О.В. Фалеева, А.В. Ягода, Г.А. Александрович // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. Материалы XVI Росс. конгресса «Гепатология сегодня». - 2011. Приложение № 37. - С. 204.

21. Уровень лептина и Q223R полиморфизм гена рецептора лептина у пациентов с абдоминальным ожирением / О.Д. Беляева, Е.А. Баженова, А.В. Березина [и др.] Проблемы женского здоровья. - 2010. - Т.5, №2. - С. 28-34.

22. Шарафетдинов, Х.Х. Роль генетических факторов в развитии метаболического синдрома / Х.Х. Шарафетдинов, А.В. Юдочкин, О.А. Плотникова // Вопросы диетологии. - 2016. - №4.- С. 30-36.

23. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans / A. Kotronen, L.E. Johansson, L.M. Johansson [et al.] // Diabetologia. - 2009. - Vol. 52 (6). - P. 1056-1060. - DOI: 10.1007/s00125-009-1285-z.

24. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity / T.M. Frayling, N.J. Timpson, M.N. Weedon [et al.] // Science. - 2007. - Vol. 316 (5826). - P. 889-94. - DOI: 10.1126/science.1141634.

25. A leptin dose-response study in obese (ob/ob) and lean (+/?) mice / R.B. Harris, J. Zhou, S.M. Redmann [et al.] // *Endocrinology*. - 1998. - Vol. 139 (1). - P. 8-19. - DOI: 10.1210/en.139.1.8/
26. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain foodcue responsivity / E. Karra, O.G. O'Daly, A.I. Choudhury [et al.] // *J. Clin. Investig.* - 2013 - Vol.123. - P. 3539-3551. - DOI: 10.1172/JCI44403.
27. A multi-ethnic study of a PNPLA3 gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease / S.M. Zain, R. Mohamed, S. Mahadeva [et al.] // *Hum. Genet.* - 2012. - Vol. 131 (7). - P. 1145-1152. - DOI: 10.1007/s00439-012-1141-y.
28. A pilot genome-wide analysis study identifies loci associated with response to obeticholic acid in patients with NASH / S. Gawrieh, X. Guo, J. Tan [et al.] // *Hepatol Commun.* - 2019. - Vol. 3. - P. 1571-1584. - DOI: 10.1002/hep4.1439.
29. A randomized, placebo-controlled trial of cenicriviroc for treatment of nonalcoholic steatohepatitis with fibrosis / S.L. Friedman, V. Ratziu, S.A. Harrison [et al.] // *Hepatology*. - 2018. - Vol. 67. - P. 1754-1767. - DOI: 10.1002/hep.29477.
30. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women / N.D. Quinton, A.J. Lee, R.J. Ross [et al.] // *Hum. Genet.* - 2001. - Vol.108 (3). - P. 233-236. - DOI: 10.1007/s004390100468.
31. Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor / A.S. Banks, S.M. Davis, S.H. Bates, M.G. Myers // *J Biol Chem.* - 2000. - Vol. 275 (19). - P. 14563-14572. - DOI: 10.1074/jbc.275.19.14563.
32. Adipokines and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Multiple Interactions / T.E. Adolph, C. Grander, F. Grabherr, H. Tilg / *Int J Mol Sci.* - 2017. - Vol. 18 (8). - P. 1649. - DOI: 10.3390/ijms18081649.
33. Adiponectin gene polymorphisms modulate acute adiponectin response to dietary fat: possible pathogenetic role in NASH / G. Musso, R. Gambino, F. De

Michiel [et al.] // *Hepatology*. - 2008. - Vol. 47. - P. 1167-1177. - DOI: 10.1002/hep.22142.

34. Adipose-derived circulating mirnas regulate gene expression in other tissues. / T. Thomou, M.A. Mori, J.M. Dreyfuss [et al.] // *Nature*. - 2017. - Vol. 542. - P. 450-455. - DOI: 10.1038/nature21365.

35. Adult onset global loss of the *fto* gene alters body composition and metabolism in the mouse / F. McMurray, C.D. Church, R. Larder [et al.] // *PLoS Genet*. - 2013. - Vol. 9 (1). - P. e1003166. - DOI: 10.1371/journal.pgen.1003166.

36. Ahima, R.S. Leptin signaling / R.S. Ahima, S.Y. Osei // *Physiol Behav* - 2004. - Vol. 81. - P. 223-41. - DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.02.014.

37. Altering of FTO in the serum and livers of NAFLD patients: a correlation analysis / J. Guo, W. Ren, X. Li [et al.] // *Int J Clin Exp Med*. - 2018. - Vol. 11 (6). - P. 6046-6053.

38. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues / H. Fei, H.J. Okano, C. Li [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*. - 1997. - Vol. 94 (13). - P. 7001-7005. - DOI: 10.1073/pnas.94.13.7001

39. Angiotensin II Type 1 Receptor rs5186 Gene Variant Predicts Incident NAFLD and Associated Hypertension: Role of Dietary Fat-Induced Pro-Inflammatory Cell Activation / G. Musso, F. Saba, M. Cassader [et al.] // *Am. J. Gastroenterol*. - 2019. - Vol. 114 (4). - P. 607-619. - DOI: 10.14309/ajg.0000000000000154.

40. Anstee, Q.M. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis / Q.M. Anstee, G. Targher, C.P. Day // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. - 2013. - Vol. 10. - P. 330-344. - DOI: 10.1038/nrgastro.2013.41.

41. Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease / K.F. Petersen, S. Dufour, A. Hariri [et al.] // *New England Journal of Medicine*. - 2010. - Vol. 362, N 12. - P. 1082-1089. - DOI:10.1056/NEJMoa0907295.

42. Aqel, B. Role of the gut microbiome in nonalcoholic fatty liver disease / B. Aqel, J. K. DiBaise // *Nutrition in Clinical Practice*. - 2015. - Vol. 7 (30). - P. 780-786. - DOI: 10.1177/0884533615605811.

43. Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents / J. Guizar-Mendoza, N. Amador-licona, S. Flores-Martinez [et al.] // *J. Hum. Hypertens.* - 2005. - Vol. 19. - P. 341-346. - DOI: 10.1038/sj.jhh.1001824.
44. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States / D. Kim, W.R. Kim, H.J. Kim, T.M. Therneau // *Hepatology.* - 2013. - Vol. 57. - P. 1357-1365. - DOI: 10.1002/hep.26156.
45. Association between serum leptin concentrations and insulin resistance: a population-based study from China / H. Zuo , Z. Shi , B.Yuan [et al.] // *PLoS One.* - 2013. - Vol. 8 (1). - P. e54615. - DOI: 10.1371/journal.pone.0054615.
46. Association between the Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor and metabolic syndrome in free-living community elderly / M.G. Gottlieb, L.C. Bodanese, L.E. Leite [et al.] // *Metab. Syndr. Relat. Disord.* - 2009. - Vol. 7 (4). - P. 341-348. - DOI: 10.1089/met.2008.0029.
47. Association between variants of the Leptin Receptor Gene (LEPR) and Overweight: A systematic review and an analysis of the CoLaus study / N. Bender, N. Allemann, D. Marek [et al.] // *PLoS One.* - 2011. - Vol. 6 (10). - P. e26157. - DOI: 10.1371/journal.pone.0026157.
48. Association of adipose tissue inflammation with histologic severity of non-alcoholic fatty liver disease / J. Du Plessis, J. van Pelt, H. Korf [et al.] // *Gastroenterology.* - 2015. - Vol. 149. - P. 635-648. - DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.044.
49. Association of apolipoprotein E polymorphisms in patients with non-alcoholic steatohepatitis / A. Sazci, G. Akpınar, C. Aygun [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* - 2008. - Vol. 53. - P. 3218-3224. - DOI:10.1007/s10620-008-0271-5.
50. Association of tumor necrosis factor α and manganese superoxide dismutase polymorphisms in patients with non-alcoholic steatohepatitis from northeast Mexico / K. Trujillo-Murillo, F.J. Bosques-Padilla, I. Calderyn-Lozano [et al.] // *Open Hepatol. J.* - 2011. - Vol. 3. - P. 1-6. - DOI: 10.2174/1876517301103010001.

51. Baratta, M. Leptin - from a signal of adiposity to a hormonal mediator in peripheral tissues / M. Baratta // *Med Sci Monit.* -2002. - Vol. 8. - P. RA282-92.
52. Bariatric surgery and non-alcoholic fatty liver disease: current and potential future treatments / A. Sasaki, H. Nitta, K. Otsuka [et al.] // *Front Endocrinol.* - 2014. - Vol. 5. - P. 164. - DOI: 10.3389/fendo.2014.00164.
53. Basaranoglu, M. Carbohydrate intake and nonalcoholic fatty liver disease: Fructose as a weapon of mass destruction / M. Basaranoglu, G. Basaranoglu, E. Bugianesi // *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2015. - Vol. 4. - P. 109-116. - DOI: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.11.05.
54. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency / S. Farooqi, G. Matarese, G.M. Lord [et al.] // *Journal of Clinical Investigation.* - 2002. - Vol. 110, N 8. - P. 1093-1103. - DOI: 10.1172/JCI15693.
55. Biologically inactive leptin and early-onset extreme obesity / M. Wabitsch, J.B. Funcke, B. Lennerz [et al.] // *New England Journal of Medicine.* - 2015. - Vol. 372 (1). - P. 48-54. - DOI: 10.1056/NEJMoa1406653.
56. Birkenfeld, A.L. Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes / A.L. Birkenfeld, G.I. Shulman // *Hepatology.* - 2014. - Vol. 59. - P. 713-723. - DOI: 10.1002/hep.26672.
57. Bosch, J. Cirrhosis as new indication for statins / J. Bosch, J. Gracia-Sancho, J.G. Abraldes // *Gut.* - 2020. - Vol. 69 (5). - P. 953-962. - DOI: 10.1136/gutjnl-2019-318237.
58. Brannian, J.D. Leptin and ovarian folliculogenesis: implications for ovulation induction and ART outcomes / J.D. Brannian, K.A Hansen // *Seminars in Reproductive Medicine.* - 2002. - Vol. 20, N 2. - P. 103-112. - DOI: 10.1055/s-2002-32501.
59. Byrne, C.D. NAFLD: A multisystem disease / C.D. Byrne, G. Targher // *Journal of hepatology.* - 2015. - Vol. 62, Issue 1S. - P. S47-S64. - DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.

60. Caruso, V. Early hypothalamic FTO overexpression in response to maternal obesity-potential contribution to postweaning hyperphagia / V. Caruso, H. Chen, M.J. Morris // PLoS ONE. - 2011. - Vol. 6. - P. e25261. - DOI: 10.1371/journal.pone.0025261.
61. Chakrabarti, J. Serum Leptin Level in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Correlation with Adiposity, Insulin, and Circulating Testosterone / J. Chakrabarti // Ann Med Health Sci Res. - 2013. - Vol. 3 (2). - P. 191-196. - DOI: 10.4103 / 2141-9248.113660.
62. Chandrakumar, A. Implications of Nonalcoholic Steatohepatitis as the Cause of End-Stage Liver Disease Before and After Liver Transplant / A. Chandrakumar, M.S. Siddiqui // Gastroenterol Clin North. Am. - 2020. - Vol. 49 (1). - P. 165-178. - DOI: 10.1016/j.gtc.2019.09.005.
63. Chapman, R.W. Obeticholic acid-a new therapy in PBC and NASH / R.W. Chapman, K.D. Lynch // Br Med Bull. - 2020. - Vol. 133. - P. 95- 104.
64. Cheung, A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Identification and Management of High-Risk Patients / A. Cheung, C. Figueredo, M.E. Rinella // Am J Gastroenterol. - 2019. - Vol. 114 (4). - P. 579-590. - DOI: 10.14309/ajg.0000000000000058.
65. Circulating leptin in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis / S.A. Polyzos, K.N. Aronis, J. Kountouras [et al.] // Diabetologia. - 2016. - Vol. 59. - P. 30-43. - DOI: 10.1007/s00125-015-3769-3.
66. Clinical and Metabolic Characterization of Lean Caucasian Subjects With Non-alcoholic Fatty Liver / A. Feldman, S.K. Eder, T.K. Felder, L. Kedenko // Am J Gastroenterol. - 2017. - Vol. 112 (1). - P. 102-110. - DOI: 10.1038/ajg.2016.318.
67. Coleman, D.L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice / D.L. Coleman // Diabetologia. - 1973. - Vol. 9 (4). - P. 294-298. - DOI: 10.1007/BF01221857.

68. Common FTO rs9939609 variant and risk of type 2 diabetes in Palestine / A. Sabarneh, S. Ereqat, S. Cauchi [et al.] // *BMC Med Genet.* - 2018. - Vol. 19 (1). - P. 156. - DOI: 10.1186/s12881-018-0668-8.
69. Common variant within the FTO gene, rs9939609, obesity and type 2 diabetes in population of Karachi, Pakistan / A. Fawwad, I.A. Siddiqui, A. Basit [et al.] // *Diabetes Metab Syndr.* - 2016. - Vol. 10 (1). - P. 43-7. - DOI: 10.1016/j.dsx.2015.02.001.
70. Complications, morbidity and mortality of nonalcoholic fatty liver disease. / A. Mantovani, E. Scorletti, A. Mosca [et al.] // *Metabolism.* - 2020. - Vol. 111S. - P. 154170. - DOI: 10.1016/j.metabol.2020.154170.
71. Cotter, T.G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease / T.G. Cotter, M. Rinella // *Gastroenterology.* - 2020. - Vol. 158 (7). - P. 1851-1864. - DOI: 10.1053/j.gastro.2020.01.052.
72. Crystal structure of the FTO protein reveals basis for its substrate specificity / Z. Han, T. Niu, J. Chang [et al.] // *Nature.* - 2010. - Vol. 464. - P. 1205-1209. - DOI:10.1038/nature08921
73. Day, C.P. Steatohepatitis: a tale of two «hits»? / C.P. Day, O.F. James // *Gastroenterology.* - 1998. - Vol. 114. - P. 842-5. - DOI: 10.1016/s0016-5085(98)70599-2.
74. de Git, K.C.G. Leptin resistance in diet-induced obesity: the role of hypothalamic inflammation / K.C.G. de Git, R.A.H. Adan // *Obes Rev.* - 2015. - Vol. 16 (3). - P. 207-224. - DOI: 10.1111/obr.12243.
75. de Gracia Hahn, D. An AGTR1 Variant Worsens Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Metabolic Syndrome / D. de Gracia Hahn, A. Duret, J.P. Mann // *Am J Gastroenterol.* - 2019. - Vol. 114 (4). - P. 556-559. - DOI: 10.14309/ajg.000000000000193.
76. Deficiency in apolipoprotein E has a protective effect on diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice / E.A. Karavia, D.J. Papachristou, I. Kotsikogianni [et al.] // *FEBS J.* -2011. -Vol. 278 (17). -P. 3119-3129. - DOI:10.1111/j.1742-4658.2011.08238.x

77. Defining Clinical Leptin Resistance - Challenges and Opportunities / M.G. Myers, S.B. Heymsfield, C. Haft [et al.] // *Cell Metab.* -2012. -Vol. 15 (2). - P. 150-156. -DOI: 10.1016/j.cmet.2012.01.002.
78. Dietary trans-fatty acid induced NASH is normalized following loss of trans-fatty acids from hepatic lipid pools / B.A. Neuschwander-Tetri, D.A. Ford, S. Acharya [et al.] // *Lipids.* - 2012. - Vol. 47. - P. 941-50. - DOI:10.1007/s11745-012-3709-7.
79. Differential regulation of metabolic, neuroendocrine, and immune function by leptin in humans / J.L. Chan, G. Matarese, G.K. Shetty [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2006. - Vol. 103 (22). - P. 8481-6. - DOI: 10.1073/pnas.0505429103.
80. Disease progression of non-alcoholic fatty liver disease: a prospective study with paired liver biopsies at 3 years. / V.W. Wong, G.L. Wong, P.C. Choi [et al.] // *Gut.* - 2010. - Vol. 59. - P. 969-974. - DOI: 10.1136/gut.2009.205088.
81. Disease Severity Is Associated With Higher Healthcare Utilization in Nonalcoholic Steatohepatitis Medicare Patients / S.C. Gordon, J. Frayssse, S. Li [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2020. - Vol. 115 (4). - P. 562-574. - DOI: 10.14309/ajg.0000000000000484.
82. Dissociation between APOC3 variants, hepatic triglyceride content and insulin resistance / J. Kozlitina, E. Boerwinkle, J.C. Cohen, H.H. Hobbs // *Hepatology.* - 2011.- Vol. 53, N 2. - P. 467-474. - DOI:10.1002/hep.24072
83. Does leptin play a role in the patho-genesis of human nonalcoholic steatohepatitis? / N. Chalasani, D.W. Crabb, O.W. Cummings [et al.] // *Am J Gastroenterol.* - 2003. - Vol. 98. - P. 2771-2776. - DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.08767.x.
84. Dongiovanni, P. Genetic Factors in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver and Steatohepatitis / P. Dongiovanni, S. Romeo, L. Valenti // *Biomed Res Int.* -2015. - Vol. 2015. - P. 460190. - DOI: 10.1155/2015/460190.
85. Drugs for Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH): Quest for the Holy Grail / M. Sharma, M. Premkumar, A. Kulkarni [et al.] // *Journal of Clinical and Transla-*

- tional Hepatology. - 2021. - Vol. 9 (1). - P. 40-50. - DOI:10.14218/JCTH.2020.00055
86. Effect of leptin infusion on insulin sensitivity and lipid metabolism in diet-induced lipodystrophy model mice / K. Nagao, N. Inoue, Y. Ujino [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. - 2008. - Vol. 7. - P. 8. - DOI: 10.1186/1476-511X-7-8.
87. Effect of semaglutide on liver enzymes and markers of inflammation in subjects with type 2 diabetes and/or obesity / P. Newsome, S. Francque, S. Harrison [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther*. - 2019. - Vol. 50. - P. 193-203. - DOI: 10.1111/apt.15316.
88. Effects of liraglutide on metabolic syndrome in WBN/Kob diabetic fatty rats supplemented with a high-fat diet / N. Kaji, Y. Takagi, S. Matsuda [et al.] // *Animal Model Exp Med*. - 2020. - Vol. 3. - P. 62-68. - DOI: 10.1002/ame2.12106
89. Effects of sodium butyrate and its synthetic amide derivative on liver inflammation and glucose tolerance in an animal model of steatosis induced by high fat diet / G. M. Raso, R. Simeoli, R. Russo [et al.] // *PLoS One*. - 2013. - Vol. 8 (7). - P. e68626. - DOI: 10.1371/journal.pone.0068626.
90. Effects of weight loss induced by bariatric surgery on hepatic adipocytokine expression / A.R. Moschen, C. Molnar, A.M. Wolf [et al.] // *J. Hepatol*. - 2009. - Vol. 51. - P. 765-777. - DOI: 10.1016/j.jhep.2009.06.016
91. Efficacy and Safety of Aldafermin, an Engineered FGF19 Analog, in a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis / S.A. Harrison, G. Neff, C.D. Guy [et al.] // *Gastroenterology*. - 2021. - Vol. 160(1). - P. 219-231. - DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.004.
92. Efficacy of metreleptin in obese patients with type 2 diabetes: cellular and molecular pathways underlying leptin tolerance / H. Moon, G. Matarese, A. Brennan [et al.] // *Diabetes*. - 2011. - Vol. 60. - P. 1647-1656. - DOI: 10.2337/db10-1791.
93. Endotoxin stimulates leptin in the human and nonhuman primate / R.E. Landman, J.J. Puder, E. Xiao [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab*. - 2003. - Vol. 88 (3). - P. 1285-1291. - DOI: 10.1210/jc.2002-021393

94. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups / A. Lonardo, S. Bellentani, C.K. Argo [et al.] // *Dig Liver Dis.* - 2015. - Vol. 47(12). - P. 997- 1006. - DOI: 10.1016/j.dld.2015.08.004.
95. Ethnic differences in hepatic steatosis: an insulin resistance paradox? / R. Guerrero, G.L. Vega, S.M. Grundy, J.D. Browning // *Hepatology.* - 2009. - Vol. 49, N 3. - P. 791-801. - DOI: 10.1002/hep.22726.
96. Fat mass and obesity associated (FTO) gene regulates gluconeogenesis in chicken embryo fibroblast cells / F. Guo, Y. Zhang, C. Zhang [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* - 2015. - Vol. 179. - P. 149-156. - DOI:10.1016/j.cbpa.2014.10.003.
97. Fat Mass and Obesity-Associated Gene Enhances Oxidative Stress and Lipogenesis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease / J. Guo, W. Ren, A. Li [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* - 2013. - Vol. 58 (4). - P. 1004-1009. - DOI:10.1007/s10620-012-2516-6.
98. Fat mass and obesity-associated gene variations are related to fatty liver disease in HIV-infected patients / R. Núñez-Torres, J. Macías, A. Rivero-Juarez [et al.] // *HIV Med.* - 2017. - Vol. 18 (8). - P. 546-554. - DOI: 10.1111/hiv.12489.
99. Feedback inhibition of leptin receptor/Jak2 signaling via Tyr1138 of the leptin Eeceptor and suppressor of cytokine signaling 3 / S. Dunn, M. Björnholm, S.H. Bates [et al.] // *Mol endocrinol.* - 2005. - Vol. 19. - P. 925-38. - DOI: 10.1210/me.2004-0353.
100. Females, Hispanics and older individuals are at greatest risk of developing metabolic syndrome in the US / B. Campbell, M. Aguilar, T. Bhuket [et al.] // *Diabetes Metab Syndr.* - 2016. - Vol. 10. - P. 230-233. - DOI: 10.1016/j.dsx.2016.06.014
101. Ferre, P. Hepatic steatosis: a role for de novo lipogenesis and the transcription factor SREBP-1c / P. Ferre, F. Foufelle // *Diabetes Obes Metab.* - 2010. - Vol. 12, Suppl 2. - P. 83-92. - DOI: 10.1111/j.1463-1326.2010.01275.x.

102. Fine mapping of the association with obesity at the FTO locus in African-derived populations / M.T. Hassanein, H.N. Lyon, T.T. Nguyen [et al.] // *Hum Mol Genet.* - 2010. - Vol. 19 (14). - P. 2907-16. - DOI: 10.1093/hmg/ddq178.
103. Fischer-Posovszky, P. Biologically inactive leptin and early-onset extreme obesity / P. Fischer-Posovszky, J.B. Funcke, M. Wabitsch // *New England Journal of Medicine.* - 2015. - Vol. 372 (1). - P. 48-54. - DOI: 10.1056/NEJMoa1406653.
104. FOSL2 promotes leptin gene expression in human and mouse adipocytes / C.D. Wrann, J. Eguchi., A. Boze [et al.] // *J Clin Invest.* - 2012. - Vol. 122 (3). - P. 1010-21. - DOI: 10.1172/JCI58431.
105. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway / A.E. Feldstein, N.W. Werneburg, A. Canbay [et al.] // *Hepatology.* - 2004. - Vol. 40, N. 1. - P. 185-194. - DOI: 10.1002/hep.20283.
106. Friedman, J. Leptin at 20: an overview / J. Friedman // *Journal of Endocrinology.* - 2014. - Vol. 223. - P. T1-T8. - DOI: 10.1530/JOE-14-0405.
107. Fructose and sugar: a major mediator of non-alcoholic fatty liver disease / T. Jensen, M.F. Abdelmalek, S. Sullivan [et al.] // *J Hepatol.* - 2018. - Vol. 68. - P. 1063-1075. - DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.019.
108. Frühbeck, G. Intracellular signaling pathways activated by leptin / G. Frühbeck // *Biochem J.* - 2006. - Vol. 393. - P. 7-20. - DOI: 10.1042/BJ20051578.
109. FTO contributes to hepatic metabolism regulation through regulation of leptin action and STAT3 signalling in liver / A. Bravard, G. Vial, M.A. Chauvin [et al.] // *Cell Commun. Signal.* - 2014. - Vol. 12. - P. 4. - DOI: 10.1186/1478-811X-12-4.
110. FTO gene polymorphisms and obesity risk in Chinese population: a meta-analysis / N.N. Zhao, G.P. Dong, W. Wu [et al.] // *World Journal of Pediatrics.* - 2019. - Vol. 15 (4). - P. 382-389. - DOI: 10.1007/s12519-019-00254-2.
111. FTO genetic variants and risk of obesity and type 2 diabetes: a meta-analysis of 28,394 Indians / S.K. Vasan, F. Karpe, H.F. Gu [et al.] // *Obesity (Silver Spring).* - 2014. - Vol. 22 (3). - P. 964-7. - DOI: 10.1002/oby.20606.

112. FTO Polymorphisms are Associated with Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) Susceptibility in the Older Chinese Han Population / Z. Gu, Y. Bi, F. Yuan [et al.] // *Clin Interv Aging*. - 2020. - Vol. 15. - P. 1333-1341. - DOI: 10.2147/CIA.S254740.
113. FTO reduces mitochondria and promotes hepatic fat accumulation through RNA demethylation / H. Kang, Z. Zhang, L. Yu [et al.] // *J. Cell. Biochem*. - 2018. - Vol. 119. - P. 5676-5685. - DOI: 10.1002/jcb.26746.
114. FTO, type 2 diabetes, and weight gain throughout adult life: a meta-analysis of 41,504 subjects from the Scandinavian HUNT, MDC, and MPP studies / J.K. Hertel, S. Johansson, E. Sonestedt [et al.] // *Diabetes*. - P. 2011. - Vol. 60 (5). - P. 1637-44. - DOI: 10.2337/db10-1340.
115. FTO-dependent function of N6-methyladenosine is involved in the hepatoprotective effects of betaine on adolescent mice / J. Chen, X. Zhou, W. Wu, X. Wang, Y. Wang // *J. Physiol. Biochem*. - 2015. - Vol. 71. - P. 405-413. - DOI: 10.1007/s13105-015-0420-1.
116. Gautron, L. Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance / L. Gautron, J.K. Elmquist // *J Clin Invest*. - 2011. - Vol. 121 (6). - P. 2087-2093. - DOI: 10.1172/JCI45888.
117. Geh, D. NAFLD-Associated HCC: Progress and Opportunities. / D. Geh, Q.M. Anstee, H.L. Reeves // *J Hepatocell Carcinoma*. - 2021. - Vol. 8. - P. 223-239. - DOI: 10.2147/JHC.S272213.
118. Gehrke, N. Metabolic inflammation - a role for hepatic inflammatory pathways as driver of comorbidities in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)? / N. Gehrke, J.M. Schattenberg // *Gastroenterology*. - 2020. - Vol. 158 (7). - P. 1929-1947. - DOI: 10.1053/j.gastro.2020.02.020.
119. Gender specific association of serum leptin and insulinemic indices with nonalcoholic fatty liver disease in prediabetic subjects / I.A. Hossain, S. Akter, M.K. Rahman, L. Ali // *PLoS ONE*. - 2015. - Vol. 10. - P. e0142165. - DOI: 10.1053/j.gastro.2020.02.020.

120. Gender- specific differences in adipose distribution and adipocytokines influence adolescent nonalcoholic fatty liver disease / O.T. Ayonrinde, J.K. Olynyk, L.J. Beilin [et al.] // *Hepatology*. - 2011. - Vol. 53. - P. 800-809. - DOI: 10.1002/hep.24097.
121. Gene polymorphisms associated with non-alcoholic fatty liver disease and coronary artery disease: a concise review / X.-L. Li, J.-Q. Sui, L.-L. Lu [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. - 2016. - Vol. 15. - P. 53. - DOI: 10.1186/s12944-016-0221-8.
122. Genetic factors contribute to variation in serum alanine aminotransferase activity independent of obesity and alcohol: a study in monozygotic and dizygotic twins / J. Makkonen, K.H. Pietiläinen, A. Rissanen [et al.] // *Journal of Hepatology*. - 2009. - Vol. 50, N 5. - P. 1035-1042. - DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.025.
123. Genetic variants of FTO influence adiposity, insulin sensitivity, leptin levels, and resting metabolic rate in the Quebec Family Study / R. Do, S.D. Bailey, K. Desbiens [et al.] // *Diabetes*. - 2008. - Vol. 57 (4). - P. 1147-50. - DOI: 10.2337/db07-1267.
124. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits / A. Scuteri, S. Sanna, W.M. Chen [et al.] // *PLoS Genet*. - 2007. - Vol. 3 (7). - P. e115. - DOI: 10.1371/journal.pgen.0030115.
125. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030 / T. Kelly, W. Yang, C.S. Chen [et al.] // *Int J Obes (Lond)*. - 2008. - Vol. 32 (9). - P. 1431-7. - DOI: 10.1038/ijo.2008.102.
126. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes / Z.M. Younossi, A.B. Koenig, D. Abdelatif [et al.] // *Hepatology*. - 2016. - Vol. 64. - P. 73-84. - DOI: 10.1002/hep.28431.
127. Glucagon-like peptide 1 decreases lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis / M.J. Armstrong, D. Hull, K. Guo [et al.] // *J Hepatol*. - 2016. - Vol. 64. - P. 399-408. - DOI: 10.1016/j.jhep.2015.08.038.

128. Groop, L. Genetics of the metabolic syndrome / L. Groop // *Br J Nutr.* - 2000. - Vol. 83, Suppl. 1. - P. S39-48. - DOI: 10.1017/s0007114500000945.
129. Haas, J.T. Pathophysiology and mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease / J.T. Haas, S. Francque, B. Staels // *Annu Rev* - 2016. - Vol. 78. - P. 181-205. - DOI: 10.1146/annurev-physiol-021115-105331.
130. Hepatic FTO expression is increased in NASH and its silencing attenuates palmitic acid-induced lipotoxicity / A. Lim, J. Zhou, R.A. Sinha [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 2016. - Vol. 479. - P. 476-481. - DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.09.086.
131. Heritability of nonalcoholic fatty liver disease / J.B. Schwimmer, M.A. Cledon, J.E. Lavine [et al.] // *Gastroenterology.* 2009. - Vol. 136, N 5. - P. 1585-1592. - DOI: 10.1053/j.gastro.2009.01.050.
132. Hunt, S.C. Association of the FTO gene with BMI / S.C. Hunt, S. Stone // *Obesity.* - 2008. - Vol. 16 (4). - P. 902-4. - DOI: 10.1038/oby.2007.126.
133. Identification and expression cloning of a leptin receptor, Ob-R. / L.A. Tartaglia, M. Dembski, X. Wang [et al.] // *Cell.* - 1995. - Vol. 83. - P. 1263-71. - DOI: 10.1016/0092-8674(95)90151-5.
134. Identification of New Sequence Variants in the Leptin Gene / M.K. Karvonen, U. Pesonen, P. Heinonen [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* - 1998. - Vol. 83 (9). - P. 3239-42. - DOI: 10.1210/jc.83.9.3239.
135. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus / M.W. Schwartz, R.J. Seeley, L.A. Campfield [et al.] // *J Clin Invest.* - 1996 - Vol. 98 (5). - P. 1101-1106. - DOI: 10.1172/JCI118891.
136. Impact of current treatments on liver disease, glucose metabolism and cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of randomised trials / G. Musso, M. Cassader, F. Rosina, R. Gambino // *Diabetologia.* - 2012. - Vol. 55. - P. 885-904. - DOI: 10.1007/s00125-011-2446-4.

137. Impact of leptin and leptin-receptor gene polymorphisms on serum lipids in Japanese obese children / T. Okada, T. Ohzeki, Y. Nakagawa [et al.] // *Acta Paediatr.* - 2010. - Vol. 99 (8). - P. 1213-7. - DOI: 10.1111/j.1651-2227.2010.01778.x.
138. Inactivation of the Fto gene protects from obesity / J. Fischer, L. Koch, C. Emmerling [et al.] // *Nature.* - 2009. - Vol. 458. - P. 894-898. - DOI: 10.1038/nature07848.
139. Increased recovery rates of phosphocreatine and inorganic phosphate after isometric contraction in oxidative muscle fibers and elevated hepatic insulin resistance in homozygous carriers of the A-allele of FTO rs9939609 / L.G. Grunnet, C. Brons, S. Jacobsen [et al.] // *J. Clin. Endocrinol Metab.* - 2009. - Vol. 94. - P. 596-602. - DOI: 10.1210/jc.2008-1592.
140. Increased soluble leptin receptor levels in morbidly obese patients with insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease / V. Medici, M.R. Ali, S. Seo [et al.] // *Obesity.* - 2010. - Vol. 18. - P. 2268-2273. - DOI: 10.1038/oby.2010.95.
141. Influence of adiposity on leptin, LH and androgen levels in lean, overweight and obese PCOS patients / G. Lazovic, U. Radivojevic, S. Milicevic, S. Spremovic // *International Journal of Fertility and Women's Medicine.* 2007. - Vol. 52, N. 2-3. - P. 82-88.
142. Ingalls, A.M. Obese, a new mutation in the house mouse / A.M. Ingalls, M.M. Dickie, G.D. Snell // *J Hered.* - 1950. - Vol. 41 (12). - P. 317-318. - DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a106073.
143. Intrahepatic fat and postprandial glycemia increase after consumption of a diet enriched in saturated fat compared with free sugars / S.A. Parry, F. Rosqvist, F.E. Mozes [et al.] // *Diabetes Care.* - 2020. - Vol. 43. - P. 1134-1141. - DOI: 10.2337/dc19-2331.
144. Iron restriction improves type 2 diabetes mellitus in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats / Y. Minamiyama, S. Takemura, S. Kodai [et al.] // *The American Journal of Physiology—Endocrinology and Metabolism.* - 2010. - Vol. 298, N 6. - P. E1140-E1149. - DOI: 10.1152/ajpendo.00620.2009.

145. Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver, Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese / T. Kawaguchi, Y. Sumida, A. Umemura [et al.] // PLoS One. - 2012. - Vol. 7. - P. e38322. - DOI: 10.1371/journal.pone.0038322.
146. Johnston, M.P. Multi-drug approaches to NASH: what's in the development pipeline? / M.P. Johnston, M.P. Patel, C.D. Byrne // Expert Opin Investig Drugs. - 2020. - Vol. 29. - P. 143-150. - DOI: 10.1080/13543784.2020.1668926.
147. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis / J. Wang, I. Leclercq, J.M. Brymora [et al.] // Gastroenterology. - 2009. - Vol. 137. - P. 713-723. - DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.011.
148. La Cava, A. Leptin in inflammation and autoimmunity A. La Cava // Cytokine. - 2016. - Vol. 98. - P. 51-58. - DOI: 10.1016/j.cyto.2016.10.011.
149. Lazo, M. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective / M. Lazo, J.M. Clark // Semin Liver Dis. - 2008. - Vol. 28. - P. 339- 350. - DOI: 10.1055/s-0028-1091978.
150. Lee, J.H. Leptin resistance is associated with extreme obesity and aggregates in families / J.H. Lee, D.R. Reed, R.A. Price // International journal of Obesity. - 2001. - Vol. 25. - P. 1471-1473. - DOI: 10.1038/sj.ijo.0801736.
151. Leibel, R. Metabolic response to weight perturbation / R. Leibel, M. Rosenbaum // Christen, Y. Novel Insights into Adipose Cell Functions, Research and Perspectives in Endocrine Interactions /Y. Christen, K. Clément, B M. Spiegel. - Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 2010. - P. 121-133. - DOI: 10.1007/978-3-642-13517-0.
152. Leptin and leptin receptors in the prostate and seminal vesicles of the adult rat /W. Malendowicz, M. Rucinski, C. Macchi [et al.] // Int. J. Mol. Med. - 2006. - Vol. 18 (4). - P. 615-8.
153. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals / K. Ikejima, H. Honda, M. Yoshikawa [et al.] // Hepatology. - 2001. - Vol. 34. - P. 288-297. - DOI: 10.1053/jhep.2001.26518.

154. Leptin concentrations in hirsute women with polycystic ovary syndrome or idiopathic hirsutism: influence on LH and relationship with hormonal, metabolic, and anthropometric measurements / P.M. Spritzer, M. Poy, M. Wiltgen [et al.] // *Human Reproduction*. - 2001. - Vol. 16, N 7. - P. 1340-1346. - DOI: 10.1093/humrep/16.7.1340.
155. Leptin enhances TNF-alpha production via p38 and JNK MAPK in LPS-stimulated Kupffer cells / J. Shen, I. Sakaida, K. Uchida [et al.] // *Life Sci*. - 2005. - Vol. 77. - P. 1502-1515. - DOI: 10.1016/j.lfs.2005.04.004.
156. Leptin G-2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian subjects / A. Constantin, G. Costache, A.V. Sima [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. - 2010. - Vol. 391 (1). - P. 282-6. - DOI: 10.2174/1871530320666201009161630.
157. Leptin in human physiology and pathophysiology / C.S. Mantzoros, F. Magkos, M. Brinkoetter [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. - 2011. - Vol. 301 (4). - P. E567-84. - DOI: 10.1152/ajpendo.00315.2011.
158. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease / B. Canbakan, V. Tahan, H. Balci [et al.] // *Ann Hepatol*. - 2008. - Vol. 7 (3). - P. 249-54. - DOI: 10.1016/S1665-2681(19)31856-3.
159. Leptin induced signal transduction pathways / K. Hegyi, K. Fulop, K. Kovacs, S. Toth, A. Falus // *Cell. Biol. Int*. - 2004. - Vol. 28. - P. 159-69. - DOI: 10.1016/j.cellbi.2003.12.003.
160. Leptin levels and leptin receptor polymorphism frequency in healthy populations / C.C. Ragin, C. Dallal, M. Okobia [et al.] // *Infect Agent Cancer*. - 2009. - Vol. 10 (4), Suppl. 1. - P. S13. - DOI: 10.1186/1750-9378-4-S1-S13.
161. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression / G.M. Lord, G. Matarese, J.K. Howard [et al.] // *Nature*. - 1998. - Vol. 394. - P. 897-901. - DOI: 10.1038/29795.
162. Leptin receptor gene polymorphisms and the risk of non-alcoholic fatty liver disease and coronary atherosclerosis in the Chinese Han population / B.Q. An, L.L.

Lu, C. Yuan [et al.] // *Hepat. Mon.* - 2016. - Vol. 16. - P. e35055. - DOI: 10.5812/hepatmon.35055.

163. Leptin receptor polymorphism is associated with serum lipid levels and impairment of cholesterol lowering effect by simvastatin in Japanese men / A. Takahashi-Yasuno, H. Masuzaki, T. Miyawaki [et al.] // *Diabetes Res Clin Pract.* - 2003. - Vol. 62 (3). - P. 169-75. - DOI: 10.1016/s0168-8227(03)00163-3.

164. Leptin receptorsEuropean / E. Gorska, K. Popko, A. Stelmaszczyk-Emmel [et al.] // *Journal of Medical Research.* - 2010. - Vol. 15, Suppl. 2. - P. 50. - DOI.: 10.1186/2047-783X-15-S2-50.

165. Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis / O. Gruzdeva, D. Borodkina, E. Uchasova [et al.] // *Diabetes Metab Syndr Obes.* - 2019. - - Vol. 12. - P. 191-198. - DOI: 10.2147/DMSO.S182406

166. Leptin stimulates bone formation in ob/ob mice at doses having minimal impact on energy metabolism / K.A. Philbrick, C.P. Wong, A.J. Branscum [et al.] // *Journal of Endocrinology.* -2017. - Vol. 232 (3) - P. 461- 474. - DOI: 10.1530/JOE-16-0484.

167. Leptin stimulates type I collagen production in db/ db mesangial cells: glucose uptake and TGF-beta type II receptor expression / D.C. Han, M. Isono, S. Chen [et al.] // *Kidney Int.* - 2001- Vol. 59. - P. 1315-1323. - DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.0590041315.x.

168. Leptin targets in the mouse brain / M.M. Scott, J.L. Lachey, S.M. Sternson, [et al.] // *J Comp Neurol.* -2009. - Vol. 514 (5). - P. 518-532. - DOI: 10.1002/cne.22025.

169. Leptin, free leptin index, insulin resistance and liver fibrosis in children with non-alcoholic fatty liver disease / V. Nobili, M. Manco, P. Ciampalini [et al.] // *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* -2006. - Vol. 155. - P. 735-743. - DOI: 10.1530/eje.1.02288.

170. Leptin, insulin resistance, and liver fibrosis in human nonalcoholic fatty liver disease / P. Angulo, L.M. Alba, L.M. Petrovic [et al.] // *J Hepatol.* -2004 - Vol. 41(6). - P. 943-9. - DOI: 10.1016/j.jhep.2004.08.020.

171. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets / T. Kakuma, Y. Lee, M. Higa [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2000. - Vol. 97. - P. 8536-8541. - DOI: 10.1073/pnas.97.15.8536.
172. Leptin/adiponectin ratio in overweight patients - gender differences / K. Selthofer-Relatic, R. Radic, A. Stupin [et al.] // *Diab Vasc Dis Res.* - 2018. - Vol. 15. - P. 260-262. - DOI: doi: 10.1177/1479164117752491.
173. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions / S. Margetic, C. Gazzola, G.G. Pegg, R.A. Hill // *Int J Obes Relat Metab Disord.* -2002. - Vol. 26. - P. 1407-1433. - DOI: 10.1038/sj.ijo.0802142.
174. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals / H.S. Moon, M. Dalamaga, S.Y. Kim [et al.] // *Endocr Rev.* - 2013. - Vol. 34. - P. 377-412. - DOI: 10.1210/er.2012-1053.
175. Leptin-induced transactivation of NPY gene promoter mediated by JAK1, JAK2 and STAT3 in the neural cell lines / O. Muraoka, B. Xu, T. Tsurumaki [et al.] // *Neurochem Int.* - 2003. - Vol. 42. - P. 591-601. - DOI: 10.1016/S0197-0186(02)00160-2.
176. Li, L. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies / L. Li, D.W. Liu, H.Y. Yan // *Obes Rev.* - 2016. - - Vol. 17 (6). - P. 510 - 9. - DOI: 10.1111/obr.12407.
177. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebocontrolled phase 2 study / M.J. Armstrong, P. Gaunt, G.P. Aithal [et al.] // *Lancet.* - 2016. - Vol. 387. - P. 679-690. - DOI: 10.1016/S0140-6736(15)00803-X.
178. Liver disease in the morbidly obese: a review of 1000 consecutive patients undergoing weight loss surgery / M. Subichin, J. Clanton, M. Makuszewski [et al.] // *Surg Obes Relat Dis.* -2015. - Vol. 11. - P. 137-141. - DOI: 10.1016/j.soard.2014.06.015.
179. Long-term outcomes of non-alcoholic fatty liver disease and the risk factors for mortality and hepatocellular carcinoma in a Japanese population / T. Kogiso, T.

- Sagawa K. Kodama [et al.] // *Gastroenterol Hepatol.* - 2020. - Vol. 35 (9). - P. 1579-1589. - DOI: 10.1111/jgh.14989.
180. Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding FTO gene causes severe growth retardation and multiple malformations / S. Boissel, O. Reish, K. Proulx [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* -2009. - Vol. 85. - P. 106-111. - DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.06.002.
181. Lyon, H. Genetics of common forms of obesity: a brief overview / H. Lyon, J.N. Hirschhorn // *American Journal of Clinical Nutrition.* -2005. - Vol. 82 (1). - P. 215S-217S. - DOI: 10.1093/ajcn/82.1.215S.
182. Machado, M.V. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease / M.V. Machado, H. Cortez-Pinto // *Annals of Hepatology.* -2012. -Vol.11, N 4. - P. 440-449. - DOI: 10.1016/S1665-2681(19)31457-7.
183. Mantzoros, C.S. Leptin concentrations in the polycystic ovary syndrome / C.S. Mantzoros, A. Dunaif, J.S. Flier // *J Clin Endocrinol Metab.* -1997. - Vol. 82 (6). - P. 1687-91. - DOI: 10.1210/jcem.82.6.4017.
184. Meek, T.H. The role of leptin in diabetes: metabolic effects / T.H. Meek, G.J. Morton // *Diabetologia.* - 2016. - Vol. 59. - P. 928-932. - DOI: 10.1007/s00125-016-3898-3.
185. Melville, N.A. Statins Shown to Reduce Hepatic Steatosis, Lobular Inflammation in Liver Disease / N.A. Melville // *ACG.* -2010. - Annual Scientific Meeting and Postgraduate Course: AbstractB 28.
186. Meta-analysis added power to identify variants in FTO associated with type 2 diabetes and obesity in the Asian population / Y. Liu, Z. Liu, Y. Song [et al.] // *Obesity (Silver Spring).* - 2010. - Vol. 18 (8). - P. 1619-24. - DOI: 10.1038/oby.2009.469.
187. Metabolic profiles and fibrosis of nonalcoholic fatty liver disease in the elderly: A community-based study / T.-P. Chen, M. Lai, W.-Y. Lin [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol.* -2020. - Vol. 35 (9). - P. 1636-1643. - DOI: 10.1111/jgh.15073.

188. Metformin increases hepatic leptin receptor and decreases steatosis in mice / X. Tang, J. Li, W. Xiang [et al.] // *J. Endocrinol.* -2016. - Vol. 230. - P. 227-237. - DOI: 10.1530/JOE-16-0142.
189. MicroRNA-214 suppresses gluconeogenesis by targeting activating transcriptional factor 4 / K. Li, J. Zhang, J. Yu [et al.] // *J. Biol. Chem.* -2015. - Vol. 290. - P. 8185-8195. - DOI: 10.1074/jbc.M114.633990.
190. Mizuno, T.M. Fat Mass and Obesity Associated (FTO) Gene and Hepatic Glucose and Lipid Metabolism / T.M. Mizuno // *Nutrients.* -2018. - Vol. 10 (11). - P. 1600. - DOI: 10.3390/nu10111600.
191. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030 / C. Estes, Q.M. Anstee, M.T. Arias-Loste [et al.] // *J Hepatol.* - 2018. - Vol. 69. - P. 896-904. - DOI: 10.1016/j.jhep.2018.05.036.
192. Molecular characterisation of hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic steatohepatitis / R. Pinyol, S. Torrecilla, H. Wang [et al.] // *J Hepatol* - 2021. - Vol. 75 (4). - P. 865-878. - DOI: 10.1016/j.jhep.2021.04.049.
193. Morris, D.L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance / D.L. Morris, L. Rui // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* -2009. - Vol. 297 (6). - P. E1247-E1259. - DOI: 10.1152/ajpendo.00274.2009.
194. Myers, M.G., Mechanisms of Leptin Action and Leptin Resistance / M.G. Myers, M.A. Cowley, H. Münzberg // *Annual Review of Physiology.* -2008. - Vol. 70. - P. 537-556. - DOI: 10.1146/annurev.physiol.70.113006.100707.
195. N(6)-Methyladenosine Guides mRNA Alternative Translation during Integrated Stress Response / J. Zhou, J. Wan, X.E. Shu [et al.] // *Mol. Cell.* -2018. - Vol. 69. - P. 636-647. - DOI: 10.1016/j.molcel.2018.01.019.
196. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications / T. Kelesidis, I. Kelesidis, S. Chou, C.S. Mantzoros // *Ann Intern Med.* -2010. - Vol. 152. - P. 93-100. - DOI: 10.7326/0003-4819-152-2-201001190-00008.

197. National, regional, and global trends in body mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants / M.M. Finucane, G.A. Stevens, M.J. Cowan [et al.] // *Lancet*. - 2011. - Vol. 377 (9765). - P. 557-67. - DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62037-5.
198. Negative regulation of hepatic fat mass and obesity associated (Fto) gene expression by insulin / T.M. Mizuno, P.S. Lew, Y. Luo, A. Leckstrom // *Life Sci*. - 2017. - Vol. 170. - P. 50-55. - DOI: 10.1016/j.lfs.2016.11.027.
199. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease / I.R. Willner, B. Waters, S.R. Patil [et al.] // *The American Journal of Gastroenterology*. -2001. - Vol. 96, N 10. - P. 2957-2961. - DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.04667.x.
200. No association of LEPR Gln223Arg polymorphism with leptin, obesity or metabolic disturbances in children / B. Pyrzak, A. Wisniewska, A. Kucharska [et al.] // *Eur J Med Res*. - 2009. - Vol. 14, Suppl. 4. - P. 201-204. - DOI: 10.1186/2047-783X-14-S4-201.
201. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of cardiovascular disease / A. Lonardo, S. Sookoian, C.J. Pirola, G. Targher // *Metabolism*. -2015. - Vol. 65 (8). - P. 1136-50. - DOI: 10.1016/j.metabol.2015.09.017.
202. Nonalcoholic fatty liver disease burden - Saudi Arabia and United Arab Emirates, 2017-2030/ K. Alswat, A.A. Aljumah, F.M. Sanai [et al.] // *Saudi J Gastroenterol*. -2018. - Vol. 24 (4). - P. 211-219. DOI: 10.4103/sjg.SJG_122_18.
203. Nonalcoholic fatty liver disease burden: Australia, 2019-2030 / L.A. Adams, S.K. Roberts, S.I. Strasser [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol*. -2020 - Vol. 35 (9). - P. 1628-1635. - DOI: 10.1111/jgh.15009.
204. Nonalcoholic fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome. / A. Lonardo, S. Ballestri, G. Marchesini [et al.] // *Dig Liver Dis*. - 2015. - Vol. 47. - P. 181-190. - DOI: 10.1016/j.dld.2014.09.020. Epub 2014 Nov 18.
205. Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions / E.M. Brunt, C.G. Janney, A.M. Di Bisceglie [et al.] // *Am. J. Gas-*

- troenterol. - 1999. - Vol. 94. - P. 2467—2477. - DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x
206. Norursodeoxycholic acid versus placebo in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a double-blind, randomised, placebocontrolled, phase 2 dose-finding trial / S. Traussnigg, J.M. Schattenberg, M. Demir [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* - 2019. - Vol. 4. - P. 781-793. - DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30184-0.
207. Obesity and overweight [Electronic resource]. - World Health Organization. - 2018. - Access mode: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
208. Overexpression of FTO leads to increased food intake and results in obesity / C. Church, L. Moir, F. McMurray [et al.] // *Nat. Genet.* - 2010. - Vol. 42. - P. 1086-1092. - DOI: 10.1038/ng.713.
209. Paracchini, V. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review / V. Paracchini, P. Pedotti, E. Taioli // *Am. J. Epidemiol.* - 2005. - Vol. 162 (2). - P. 101-114. - DOI: 10.1093/aje/kwi174.
210. Parental non-alcoholic fatty liver disease increases risk of nonalcoholic fatty liver disease in offspring / M.T. Long, E.B. Gurary, J.M. Massaro [et al.] // *Liver Int.* - 2019. - Vol. 3 (4). - P. 740-7. - DOI: 10.1111/liv.13956.
211. Park, H.K. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism / H.K. Park, R.S. Ahima // *Metabolism.* - 2015. - Vol. 64. - P. 24. - DOI: 10.1016/j.metabol.2014.08.004.
212. Parker, R. The role of adipose tissue in fatty liver diseases / R. Parker // *Liver Research.* - 2018. - Vol. 1. - P. 35-42. - DOI: 10.1016/j.livres.2018.02.002.
213. Parthasarathy, G., Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis / G. Parthasarathy, X. Revelo, H. Malhi // *An Overview. Hepatology Communications.* - 2020. - Vol. 4, N 4. - P. 478-492. - DOI: 10.1002/hep4.1479.
214. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: from «two hit theory» to «multiple hit model» / Y.L. Fang, H. Chen, C.L.

- Wang, L. Liang // *World J Gastroenterol.* - 2018. - Vol. 24. - P. 2974-2983. - DOI: 10.3748/wjg.v24.i27.2974.
215. Patients with nonalcoholic steatohepatitis experience severe impairment of health-related quality of life / Z.M. Younossi, M. Stepanova, E.J. Lawitz [et al.] // *Am J Gastroenterol.* - 2019. - Vol. 114 (10). - P. 1636-1641. - DOI: 10.14309/ajg.0000000000000375.
216. Petrovic, G. Obesity and metabolic syndrome as risk factors for the development of non-alcoholic fatty liver disease as diagnosed by ultrasound / G. Petrovic, G. Bjelaković, D. Benedeto-Stojanov // *Vojnosanit Pregl.* - 2016. - Vol. 73 (10). - P. 910 - 20. - DOI: 10.2298/VSP150514093P.
217. Physical Activity Attenuates the Influence of FTO Variants on Obesity Risk: A Meta-Analysis of 218,166 Adults and 19,268 Children / T.O. Kilpelainen, Q. Lu, S. Brage [et al.] // *PLoS Med.* - 2011. - Vol. 8 (11). - P. e1001116. - DOI:10.1371/journal.pmed.1001116.
218. Pleiotropy of leptin receptor signalling is defined by distinct roles of the intracellular tyrosines / P. Hekerman, J. Zeidler, S. Bamberg-Lemper [et al.] // *FEBS J.* - 2005. - Vol. 272(1). - P. 109-119. - DOI: 10.1111/j.1742-4658.2004.04391.x.
219. PNPLA3 and TNF- α G238A Genetic Polymorphisms in Egyptian Patients with Different Grades of Severity of NAFLD / M.A. Hegazy, R.M.A. Samie, A. Ezzat [et al.] // *Open Journal of Gastroenterology.* - 2016. - Vol. 6. - P. 53-64.
220. Polymorphism of human leptin receptor gene is associated with type 2 diabetic patients complicated with non-alcoholic fatty liver disease in China / H. Lu, J. Sun, L. Sun [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol.* - 2009. - Vol. 24 (2). - P. 228-32. - DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05544.x
221. Polyzos, S.A. Leptin in health and disease: facts and expectations at its twentieth anniversary / S.A. Polyzos, C.S. Mantzoros // *Metabolism.* - 2015. - Vol. 64. - P. 5-12. - DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.017.
222. Polyzos, S.A. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease / S.A. Polyzos, J. Kountouras, C.S. Mantzoros // A narrative review. *Metabolism.* - 2015. - Vol. 64. - P. 60-78. - DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.012.

223. Poritsanos, N.J. Relationship between blood glucose levels and hepatic Fto mRNA expression in mice / N.J. Poritsanos, P.S. Lew, T.M. Mizuno // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 2010. - Vol. 400. - P. 713-717. - DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.08.133.
224. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue / Y. Zhang, R. Proenca, M. Maffei [et al.] // *Nature.* - 1994. - Vol. 372 (6505). - P. 425-432. - DOI: 10.1038/372425a0.
225. Positive correlation of serum leptin with estradiol levels in patients with polycystic ovary syndrome / H.C. Mendonça, R.M. Montenegro, M.C. Foss [et al.] // *Braz J Med Biol Res.* - 2004. - Vol. 37 (5). - P. 729-36. - DOI: :10.1590/S0100-879X2004000500015.
226. Predictors for incidence and remission of NAFLD in the general population during a seven-year prospective follow-up / S. Zelber-Sagi, R. Lotan, A. Shlomai [et al.] // *J Hepatol.* - 2012. - Vol. 56. - P. 1145-1151. - DOI: 10.1016/j.jhep.2011.12.011.
227. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity / J.D. Browning, L.S. Szczepaniak, R. Dobbins [et al.] // *Hepatology.* - 2004. - Vol. 40, N 6. - P. 1387-1395. - DOI: 10.1002/hep.20466.
228. Prevalence of loss-of-function FTO mutations in lean and obese individuals / D. Meyre, K. Proulx, H. Kawagoe-Takaki [et al.] // *Diabetes.* - 2010. - Vol. 59. - P. 311-318. - DOI: 10.2337/db09-0703
229. Projected Increase in Obesity and Non-Alcoholic-Steatohepatitis-Related Liver Transplantation Waitlist Additions in the United States / N.D. Parikh, W.J. Marrero, J. Wang [et al.] // *Hepatology.* - 2019. - Vol. 70 (2). - P. 487-495. - DOI: 10.1002/hep.30854.
230. Qureshi, K. Prevalence of biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease in severely obese subjects without metabolic syndrome /K. Qureshi, G.A. Abrams // *Clin Obes.* - 2016. - Vol. 6 (2). - P. 117-23. - DOI: 10.1111/cob.12132.
231. REGENERATE: Design of a pivotal, randomised, phase 3 study evaluating the safety and efficacy of obeticholic acid in patients with fibrosis due to nonalco-

- holic steatohepatitis / V. Ratziu, A.J. Sanyal, R. Loomba [et al.] // *Contemp Clin Trials*. - 2019. - Vol. 84. - P. 105803. - DOI: 10.1016/j.cct.2019.06.017.
232. Regulation of circulating soluble leptin receptor levels by gender, adiposity, sex steroids, and leptin: observational and interventional studies in humans / J.L. Chan, S. Blüher, N. Yannakouris [et al.] // *Diabetes*. - 2002. - Vol. 51. - P. 2105-12. - DOI: 10.2337/diabetes.51.7.2105
233. Regulation of Fto/Ftm gene expression in mice and humans. / G. Stratigopoulos, S.L. Padilla, C.A. LeDuc [et al.] // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008. - Vol. 294 (4) - P. R1185-96. - DOI: 10.1152/ajpregu.00839.2007.
234. Relationship between obesity and Leptin (G-2548A) and Leptin receptor (668A>G (Q223R)) gene polymorphisms in Turkish population / A. Rustemoglu, S. Sahin, T. Tasliyurt [et al.] // *Endocrine Abstracts*. - 2012. - Vol. 29. - P. 1273. - DOI: 10.1089/gtmb.2011.0324.
235. Relationship of FTO gene variations with NAFLD risk in Chinese men / X. Chen, Y. Gao, X. Yang [et al.] // *Open Life Sci*. - 2020. - Vol. 15 (1). - P. 860-867. - DOI: 10.1515/biol-2020-0081.
236. Relationships between serum soluble leptin receptor level and serum leptin and adiponectin levels, insulin resistance index, lipid profile, and leptin receptor gene polymorphisms in the Japanese population. / T. Ogawa, H. Hirose, Y. Yamamoto [et al.] // *Metabolism*. - 2004. - Vol. 53 (7). - P. 879-885. - DOI: 10.1016/j.metabol.2004.02.009.
237. Role of Aramchol in steatohepatitis and fibrosis in mice / M. Iruarrizaga-Lejarreta, M. Varela-Rey, D. Fernández-Ramos [et al.] // *Hepatol Commun*. - 2017. - Vol. 1. - P. 911-927. - DOI: 10.1002/hep4.1107.
238. Role of Physical Activity and Exercise in Treating Patients with Overweight and Obesity / J.M. Jakicic, R.J. Rogers, K.K. Davis // *Clin Chem*. - 2018. - Vol. 64 (1). - P. 99-107. - DOI: 10.1373/clinchem.2017.272443.
239. Romero-Gómez, M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise / M. Romero-Gómez, S. Zelber-Sagi, M. Trenell // *J Hepatol*. - 2017. - Vol. 67 (4). - P. 829-846. - DOI: 10.1016/j.jhep.2017.05.016.

240. Rosenbaum, M. Role of leptin in energy homeostasis in humans / M. Rosenbaum, R. Leibel // *J Endocrinol.* - 2014. - Vol. 223 (1). - P. T83-T96. - DOI: 10.1530/JOE-14-0358.
241. Sahu, A. Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance / A. Sahu // *Front Neuroendocrinol.* - 2003. - Vol. 24. - P. 225-53. - DOI: 10.1016/j.yfrne.2003.10.001.
242. Samuel, V.T. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux / V.T. Samuel, G.I. Shulman // *J Clin Invest.* 2016. - Vol. 126. - P. 12-22. - DOI: 10.1172/JCI77812.
243. Santoro, A. Drug targeting of leptin resistance / A. Santoro, G. Mattace Raso, R. Meli // *Life Sci.* - 2015. - Vol. 140. - P. 64-74. - DOI: 10.1016/j.lfs.2015.05.012.
244. Sepilian, V.P. Serum soluble leptin receptor levels and free leptin index in women with polycystic ovary syndrome: relationship to insulin resistance and androgens / V.P. Sepilian, J.R. Crochet, M. Nagamani // *Fertil Steril.* - 2006. - Vol. 85 (5). - P. 1441-7. - DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.10.038.
245. Serum leptin and soluble leptin receptor in non-alcoholic fatty liver disease / X.D. Huang, Y. Fan, H. Zhang [et al.] // *World J Gastroenterol.* -2008. - Vol. 14. - P. 2888-2893. - DOI: 10.3748/wjg.14.2888.
246. Serum leptin concentration in moderate and severe obesity: relationship with clinical, anthropometric and metabolic factors / A. Liuzzi., G. Savia, M. Tagliaferri [et al.] // *Int J Obes Relat Metab Disord.* - 1999. - Vol. 23. - P. 1066- 1073. - DOI: 10.1038/sj.ijo.0801036.
247. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity / S. Chitturi, G. Farrell, L. Frost [et al.] // *Hepatology.* - 2002. - Vol. 36. - P. 403-409. - DOI: 10.1053/jhep.2002.34738.
248. Serum Leptin Levels in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis / A. Uygun, A. Kadayifci, Z. Yesilova [et al.] // *Am J Gastroenterol.* -2000. - Vol. 95 (12). - P. 3584-9. -DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03297.x.

249. Serum retinol-binding protein 4, leptin, and plasma asymmetric dimethylarginine levels in obese and nonobese young women with polycystic ovary syndrome / R. Yildizhan, G.A. Ilhan, B. Yildizhan [et al.] // *Fertil Steril*. -2011. - Vol. 96 (1). - P. 246-50. - DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.04.073.
250. Shalitin, S., Role of the pubertal process and pubertal growth- A review / S. Shalitin , M. Phillip // *Int J Obes Relat Metab Disord*. -2003. - Vol. 27 (8). - P. 869-74. - DOI: 10.1038/sj.ijo.0802328.
251. Shoelson, S.E. Obesity, inflammation, and insulin resistance / S.E. Shoelson, L. Herrero, A. Naaz // *Gastroenterology*. - 2007. - N 132. -P. 2169-2180. - DOI 10.1053/j.gastro.2007.03.059.
252. Soluble leptin receptor in serum of subjects with complete resistance to leptin: relation to fat mass / N. Lahlou, K. Clement, J.C. Carel [et al.] // *Diabetes*. - 2000. - Vol. 49. - P. 1347-1352. - DOI: 10.2337/diabetes.49.8.1347.
253. Soluble leptin receptor represents the main leptin binding activity in human blood / A. Lammert, W. Kiess, A. Bottner [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. -2001. - Vol. 283. - P. 982-988. - DOI: 10.1006/bbrc.2001.4885.
254. STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction / S.H. Bates, W.H. Stearns, T.A. Dundon [et al.] // *Nature*. - 2003. - Vol. 421. - P. 856 - 859. - DOI: 10.1038/nature01388.
255. State-Level Hepatocellular Carcinoma Incidence and Association with Obesity and Physical Activity in the United States / Y.-T. Lee, J.J. Wang, M. Luu [et al.] // *Hepatology*. -2021. - Vol. 74 (3). - P. 1384-1394. - DOI: 10.1002/hep.31811.
256. Statin use and non-alcoholic steatohepatitis in at risk individuals / P. Dongiovanni, S. Petta, V. Mannisto [et al.] // *J. of Hepatol*. - 2015 - Vol. 63 (3). - P. 705-12. - DOI: 10.1016/j.jhep.2015.05.0065.
257. Statins Are Underutilized in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Dyslipidemia *Dig Dis Sci* / P. Blais, M. Lin, J.R. Kramer, H. El-Serag B.F. Kanwal // *Dig Dis Sci*. -2016. - Vol. 61 (6). - P. 1714-20. - DOI: 10.1007/s10620-015-4000-6.

258. Statins: Old drugs as new therapy for liver diseases? / E. Pose, J. Trebicka, R.P. Mookerjee [et al.] // *J. of Hepatology*. - 2019. - Vol. 70, Issue 1, - P. 194-202. - DOI: 10.1016/j.jhep.2018.07.019
259. Swellam, M., Association of nonalcoholic fatty liver disease with a single nucleotide polymorphism on the gene encoding leptin receptor / M. Swellam, N. Hamdy // *Epub*. - 2012. - Vol. 64. - P. 180-6. - DOI: 10.1002/iub.597.
260. Taga, T, Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines / T. Taga, T. Kishimoto // *Annu Rev Immunol*. - 1997. - Vol. 15. - P. 797-819. - DOI: 10.1146/annurev.immunol.15.1.797.
261. Targher, G. Evidence that non-alcoholic fatty liver disease and polycystic ovary syndrome are associated by necessity rather than chance: a novel hepatovarian axis? / G. Targher, M. Rossini, A. Lonardo // *Endocrine*. - 2016. - Vol. 51. - P. 211-221. - DOI: 10.1007/S12020-015-0640-8.
262. Targher, G., A perspective on metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease / G. Targher, C.D. Byrne // *Metab Syndr Relat Disord*. - 2015. - Vol. 13. - P. 235-238. - DOI: 10.1089/met.2015.1502.
263. The APOC3 T-455C and C-482T promoter region polymorphisms are not associated with the severity of liver damage independently of PNPLA3 I148M genotype in patients with nonalcoholic fatty liver / L.Valenti, V. Nobili, A. Al-Serri [et al.] // *Journal of Hepatology*. -2011. - Vol. 55, N 6. - P. 1409-1414. - DOI: 10.1016/j.jhep.2011.03.035.
264. The association of leptin with severity of non-alcoholic fatty liver disease: A population-based study / L. Rotundo, A. Persaud, M. Feurdean [et al.] // *Clin Mol Hepatol*. -2018. - Vol. 24 (4). - P. 392-401. - DOI: 10.3350/cmh.2018.0011.
265. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases / N. Chalasani, Z. Younossi, J.E. Lavine [et al.] // *Hepatology*. - 2018. - Vol. 67. - P. 328-357. - DOI: 10.1002/hep.29367.
266. The Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ) for assessment of restrained, emotional, and external eating behavior / T. van Strien, J.E.R. Frijters,

- G.P.A. Bergers, P.B. Defares // *Int. J. Eating Disord.* - 1986. - Vol. 5 (2). - P. 295-316. - DOI: 10.1002/1098-108X(198602)5:2<295::AID-EAT2260050209>3.0.CO;2-T.
267. The fat mass and obesity associated gene FTO functions in the brain to regulate postnatal growth in mice / X. Gao, Y.H Shin, M. Li [et al.] // *PLoS ONE* - 2010. - Vol. 5. - P. e14005. - DOI: 10.1371/journal.pone.0014005.
268. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population / M. Villalobos-Comparán, T.M. Flores-Dorantes, T.M. Villarreal-Molina [et al.] // *Obesity (Silver Spring)*. -2008. - Vol. 16 (10). - P. 2296-301. - DOI: 10.1038/oby.2008.367.
269. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors / H. Baumann, K.K. Morella, D.W. White [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*. -1996. - Vol. 93 (16). - P. 8374-8378. - DOI: 10.1073/pnas.93.16.8374.
270. The Gln223Arg polymorphism in the leptin receptor is associated with familial combined hyperlipidemia / G.M. van der Vleuten, L.A. Kluijtmans, A. Hijmans [et al.] // *Int J Obes.* - 2006. - Vol. 30 (6). - P. 892-8. - DOI:10.1038/sj.ijo.0803234.
271. The impact of patatin-like phospholipase domaincontaining protein 3 polymorphism on hepatocellular carcinoma prognosis / Y. Takeuchi, F. Ikeda, Y. Moritou [et al.] // *J. Gastroenterol.* - 2012. - Vol. 48 (3). - P. 405-412. - DOI: 10.1007/s00535-012-0647-3.
272. The Inter-Relation between Leptin Receptor (*Q223R*) Gene Polymorphism and the Risk of Egyptian Patients with HCC / H.A. Karam, S.S. Bessa, E.M.M. Ali [et al.] // *Asian Pac J Cancer Prev.* - 2020. - Vol. 21 (12). - P. 3557-3565. - DOI: 10.31557/APJCP.2020.21.12.3557.
273. The Leptin System and Diet: A Mini Review of the Current Evidence / K. Mendoza-Herrera, A.A. Florio, M. Moore [et al.] // *J Front. Endocrinol.* - 2021. - Vol. 12. - P. 749050. - DOI: 10.3389/fendo.2021.749050.

274. The long form of the leptin receptor regulates STAT5 and ribosomal protein S6 via alternate mechanisms / Y. Gong, R. Ishida-Takahashi, E.C. Villanueva [et al.] // *J Biol Chem.* - 2007. - Vol. 282. - P. 31019-31027. - DOI: 10.1074/jbc.M702838200.
275. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase / T. Gerken, C.A. Girard, Y.C. Tung [et al.] // *Science.* - 2007. - Vol. 318 (5855). - P. 1469-72. - DOI: 10.1126/science.1151710.
276. The Q223R polymorphism in LEPR is associated with obesity in Pacific Islanders / T. Furusawa, I. Naka, T. Yamauchi [et al.] // *Hum Genet.* - 2010. - Vol. 127 (3). - P. 287-294. - DOI: 10.1007/s00439-009-0768-9.
277. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability / N. Yiannakouris, M. Yannakoulia, L. Melistas [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* -200. - Vol. 86 (9). - P. 4434-9. - DOI: 10.1210/jcem.86.9.7842.
278. The relationship between obesity and the severity of non-alcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis / F.B. Lu, E.D. Hu., L.M. Xu [et al.] // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* - 2018. - Vol. 12 (5). - P. 491-502. - DOI: 10.1080/17474124.2018.1460202.
279. The role of inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity-related cognitive impairment / Y. Liu, J. Yu, Y.-C. Shi [et al.] // *Life Sciences.* - 2019. - Vol. 233. - P. 116707. - DOI: 10.1016/j.lfs.2019.116707.
280. The role of leptin in non-alcoholic fatty liver disease / R.A. Elbadawy, E.A. Eleter, A. Helmy [et al.] // *Saudi J Gastroenterol.* -2006. - Vol. 12 (2). - P. 68-72. - DOI: 10.4103/1319-3767.27848.
281. The sod2 c47t polymorphism influences NAFLD fibrosis severity: evidence from case-control and intra-familial allele association studie / A. Al-Serri, Q.M. Anstee, L. Valenti [et al.] // *J. Hepatol.* -2011. - Vol. 56 (2). - P. 448-454. - DOI: 10.1016/j.jhep.2011.05.029.

282. Triantafyllou, G.A. Leptin and hormones: energy homeostasis / G.A. Triantafyllou, S.A. Paschou, C.S. Mantzoros // *Endocrinol Metab Clin North Am.* - 2016. - Vol. 45. - P. 633-645. - DOI: 10.1016/j.ecl.2016.04.012.
283. Ursodeoxycholic acid alleviates nonalcoholic fatty liver disease by inhibiting apoptosis and improving autophagy via activating AMPK / P. Wu, J. Zhao, Y. Guo [et al.] // *Biochem Biophys Res. Commun.* -2020. - Vol. 529 (3). - P. 834-838. - DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.05.128.
284. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity / C. Dina, D. Meyre, S. Gallina [et al.] // *Nat Genet.* -2007. - Vol. 39 (6). - P. 724-6. - DOI: 10.1038/ng2048.
285. Variation in sequence and expression of the avian FTO, and association with glucose metabolism, body weight, fatness and body composition in chickens / X. Jia, Q. Nie, S.J. Lamont, X. Zhang // *Int J. Obes.* -2012. - Vol. 36. - P. 1054-1061. - DOI: 10.1038/ijo.2011.221.
286. Weight loss through lifestyle modification significantly reduces features of nonalcoholic steatohepatitis / E. Vilar-Gomez, Y. Martinez-Perez, L. Calzadilla-Bertot [et al.] // *Gastroenterology.* - 2015. - Vol. 149. - P. 367-378. - DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.005.
287. Weiß, J. Non-alcoholic fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment / J. Weiß, M. Rau, A. Geier // *Dtsch Arztebl Int.* - 2014. - Vol. 111 (26). - P. 447-52. - DOI: 10.3238/arztebl.2014.0447.
288. Whole-exome sequencing identifies novel LEPR mutations in individuals with severe early onset obesity / R. Gill, Y.H. Cheung, Y. Shen [et al.] // *Obesity (Silver Spring).* -2014. - Vol. 22 (2). - P. 576-84. - DOI: 10.1002/oby.20492.
289. Xian, Y.X. MAFLD vs. NAFLD: shared features and potential changes in epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and pharmacotherapy / Y.X Xian, J.P. Weng, F. Xu // *Chin Med J.* - 2021. - Vol. 134. - P. 8-19. - DOI: 10.1097/CM9.0000000000001263.

290. Yang, R. Barouch Leptin signaling and obesity. Cardiovascular consequences / R. Yang, A. Lili // *Circ. Res.* - 2007. - Vol. 101. - P. 545-59. - DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.156596.
291. Zhang, C. Interaction of polymorphisms of Leptin receptor gene Gln223Arg, MnSOD9Ala/Val genes and smoking in nonalcoholic fatty liver disease / C. Zhang, L. Guo, X. Guo // *Wei Sheng Yan Jiu.* - 2014. - Vol. 43 (5). - P. 724-31.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Опросник пищевого поведения (DEBQ)

1. Если ваш вес начинает нарастать, вы едите меньше обычного?	1	2	3	4	5
2. Стараетесь ли вы есть меньше, чем вам хотелось бы во время обычного приёма пищи?	1	2	3	4	5
3. Часто ли вы отказываетесь от еды и питья из-за того, что беспокоитесь о своём весе?	1	2	3	4	5
4. Аккуратно ли вы контролируете количество съеденного?	1	2	3	4	5
5. Выбираете ли вы пищу преднамеренно, чтобы похудеть?	1	2	3	4	5
6. Если вы переели, будете ли вы на следующий день есть меньше?	1	2	3	4	5
7. Стараетесь ли вы есть меньше, чтобы не поправиться?	1	2	3	4	5
8. Часто ли вы стараетесь не есть между обычными приёмами пищи из-за того, что следите за своим весом?	1	2	3	4	5
9. Часто ли вы стараетесь не есть вечером из-за того, что следите за своим весом?	1	2	3	4	5
10. Имеет ли значение ваш вес, когда вы едите?	1	2	3	4	5
11. Возникает ли у вас желание есть, когда вы раздражены?	1	2	3	4	5
12. Возникает ли у вас желание есть, когда вам нечего делать?	1	2	3	4	5
13. Возникает ли у вас желание есть, когда вы подавлены или обескуражены?	1	2	3	4	5
14. Возникает ли у вас желание есть, когда вам одиноко?	1	2	3	4	5
15. Возникает ли у вас желание есть, когда вас кто-либо подвёл?	1	2	3	4	5
16. Возникает ли у вас желание есть, когда вам что либо препятствует, встаёт на вашем пути, или нарушаются ваши планы, либо что то не удаётся?	1	2	3	4	5
17. Возникает ли у вас желание есть, когда вы предчувствуете какую-либо неприятность?	1	2	3	4	5
18. Возникает ли у вас желание есть, когда вы встревожены, озабочены или напряжены?	1	2	3	4	5
19. Возникает ли у вас желание есть, когда «всё не так», «всё валится из рук»?	1	2	3	4	5
20. Возникает ли у вас желание есть, когда вы испуганы?	1	2	3	4	5
21. Возникает ли у вас желание есть, когда вы разочарованы, когда разрушены ваши надежды?	1	2	3	4	5
22. Возникает ли у вас желание есть, когда вы взволнованы, расстроены?	1	2	3	4	5
23. Возникает ли у вас желание есть, когда вы скучаете, утомлены, неспо-	1	2	3	4	5

койны?					
24. Едите ли вы больше чем обычно, когда еда вкусная?	1	2	3	4	5
25. Если еда хорошо выглядит и хорошо пахнет, едите ли вы больше обычного?	1	2	3	4	5
26. Если вы видите вкусную пищу и чувствуете ее запах, едите ли вы больше обычного?	1	2	3	4	5
27. Если у вас есть что-либо вкусное, съедите ли вы это немедленно?	1	2	3	4	5
28. Если бы проходите мимо булочной (кондитерской), хочется ли вам купить что-либо вкусное?	1	2	3	4	5
29. Если вы проходите мимо закусочной или кафе, хочется ли вам купить что-либо вкусное?	1	2	3	4	5
30. Если вы видите, как едят другие, появляется ли у вас желание есть?	1	2	3	4	5
31. Можете ли вы остановиться, если едите что-либо вкусное?	5	4	3	2	1
32. Едите ли вы больше чем обычно в компании (когда едят другие)?	1	2	3	4	5
33. Когда вы готовите пищу, часто ли вы её пробуете?	1	2	3	4	5