

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

на правах рукописи

Кондратова Мария Александровна

**НЕАЛКОГОЛЬНАЯ ЖИРОВАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ,
МУТАЦИИ С282У И Н63D ГЕНА HFE И ОСОБЕННОСТИ ОБМЕННЫХ
НАРУШЕНИЙ**

14.01.04 – внутренние болезни

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Куимов Андрей Дмитриевич
Научный консультант:
доктор медицинских наук, доцент
Максимов Владимир Николаевич

Новосибирск – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Неалкогольная жировая болезнь печени: определение.....	13
1.1.1 Эпидемиология неалкогольной жировой болезни печени. Возрастные и гендерные особенности.....	14
1.1.2 Классификация неалкогольной жировой болезни печени.....	16
1.1.3 Ведущие патогенетические механизмы формирования неалкогольной жировой болезни печени и ее клиническое значение.....	17
1.2 Критерии диагностики неалкогольной жировой болезни печени.....	19
1.3 Обменные нарушения при неалкогольной жировой болезни печени.....	21
1.3.1 Нарушение функции печени.....	21
1.3.2 Расстройства углеводного обмена.....	22
1.3.3 Расстройства липидного обмена.....	22
1.3.4 Нарушения обмена железа	23
1.3.5 Расстройства порфиринового обмена	24
1.4 Полиморфизм генов-кандидатов при заболеваниях внутренних органов.....	26
1.5 Полиморфизм генов-кандидатов при хронических заболеваниях печени.....	28
1.6 Резюме.....	31
ГЛАВА 2 ДИЗАЙН. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	33
2.1 Основные этапы и дизайн исследования.....	33
2.2 Критерии включения и исключения больных из исследования.....	34
2.3 Характеристика пациентов с неалкогольной жировой болезнью	

печени.....	36
2.4 Характеристика лиц группы сравнения (популяционная).....	41
2.5 Методы исследования больных.....	43
2.5.1 Методы исследования показателей липидного, углеводного обмена и показателей обмена железа.....	43
2.5.2 Исследование показателей порфиринового обмена.....	46
2.6 Методики клинико-молекулярного исследования.....	49
2.6.1 Подготовка препаратов ДНК.....	50
2.6.2 Генотипирование полиморфизма кодирующей части гена HFE аллелей C282Y и H63D.....	50
2.7 Методы математической обработки полученных данных.....	51
2.8 Степень личного участия соискателя в выполнении работы.....	53
ГЛАВА 3 МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА И ПОЛИМОРФИЗМ АЛЛЕЛЕЙ C282Y И H63D ГЕНА HFE ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ.....	54
3.1 Частота выявления мутаций C282Y и H63D гена HFE у пациентов основной группы с неалкогольной жировой болезнью печени и у лиц группы сравнения (популяционной).....	54
3.2 Состояние липидного обмена у пациентов основной группы.....	56
3.3 Состояние углеводного обмена у пациентов основной группы.....	58
3.4 Состояние порфиринового обмена у пациентов основной группы.....	62
3.5 Состояние обмена железа у пациентов основной группы.....	71
3.6 Состояние функции печени у пациентов основной группы.....	72
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	75
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	80
ВЫВОДЫ.....	86
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	87
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	88
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	90

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	111
ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное) Модифицированный тест «Сетка Lego»....	113
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (справочное) Анкета ПАС (постинтоксикационный алкогольный синдром).....	114
ПРИЛОЖЕНИЕ В (справочное) Опросник CAGE.....	116
Приложение Г (справочное) вопросник AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test – тест, идентифицирующий расстройства, связанные с употреблением алкоголя).....	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

В последние годы наблюдается заметный рост хронических заболеваний печени различной этиологии. Одним из таких заболеваний с высоким распространением, трудностями ранней диагностики, высокой возможностью прогрессирования патологического процесса, является неалкогольная жировая болезнь печени [55; 113; 157].

Неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) уделяют большое внимание многие клиницисты, что обусловлено все большей распространенностью и выявлением данной патологии среди населения за последнее десятилетие. Это подтверждается официальными статистическими данными органов здравоохранения и эпидемиологическими исследованиями [69; 87; 155; 216]. Часто НАЖБП протекает бессимптомно, что затрудняет эпидемиологические исследования, однако многочисленные данные свидетельствуют, что распространенность НАЖБП значительно больше, чем предполагалось раньше и является одним из самых распространенных заболеваний органов пищеварения [66; 160; 184; 194; 203].

Многолетние наблюдения за пациентами с морфологически подтвержденной НАЖБП, выявили ее прогрессирование и формирование неалкогольного стеатогепатита у каждого третьего больного, у каждого пятого из них зарегистрированы признаки фиброза с исходом в цирроз печени различной степени выраженности [19; 190]. В последние годы НАЖБП рассматривается, как потенциальный риск развития гепатоцеллюлярной карциномы [218].

Несмотря на то, что НАЖБП становится одним из распространённых заболеваний печени, патогенез ее сложный, многофакторный и полностью не изучен. Поэтому для клиницистов важно определять факторы, обуславливающие развитие стеатоза печени, а также иметь возможность оценить течение и прогноз заболевания. Важную роль в развитии НАЖБП играют разнообразные расстройства обмена веществ. Основными метаболическими нарушениями в

развитие НАЖБП являются расстройства липидного и углеводного обмена с развитием инсулинорезистентности (ИР) [38; 93; 144; 154; 191]. Важное значение в развитии НАЖБП отводится также нарушению обмена железа [120; 145]. Имеющиеся в литературе немногочисленные сведения о состоянии порфиринового обмена при заболеваниях печени, носят разноплановый характер. Расстройства порфиринового обмена диагностированы преимущественно на стадии цирроза печени [41; 43].

Степень разработанности темы диссертации

В настоящее время активно проводятся генетические исследования, целью которых является идентификация генов, ассоциирующихся с увеличением риска развития хронических заболеваний печени [3; 86; 139; 168; 201]. Изучение роли генетического полиморфизма позволяет провести поиск новых предикторов, играющих роль в формировании метаболических поражений печени. К настоящему времени установлены полиморфизмы отдельных нуклеотидов, при изучении которых возможно выявление генов-кандидатов, позволяющих предположить не только развитие определённой патологии, но и её вероятное течение и прогрессирование [85; 91]. При хронических заболеваниях печени полиморфизм различных генов изучался при алкогольном циррозе печени [3], вирусном гепатите [31], наследственном гемохроматозе [49]. Целенаправленно частоты аллелей С282У и Н63D гена HFE изучали при вирусном гепатите С и алкогольных поражениях печени, при которых оценивалась ассоциация с синдромом перегрузки железа [34]. Обнаружены ассоциации аллеля С282У при НАЖБП на стадии цирроза печени [163]. Имеются сообщения, что до 73 % больных поздней кожной порфирией (ПКП), являются гетеро- или гомозиготными носителями мутаций в гене идиопатического гемохроматоза HFE, в том числе 42 % – мутации С282У и 31 % – мутации Н63D [100; 211]. Повышенная частота этих мутаций при ПКП рассматривается как один из факторов, предрасполагающих к развитию гиперсидеринемии и оценивается как одно из совокупных условий, провоцирующих манифестацию болезни [91; 176].

Вместе с тем известны и неспецифические нарушения метаболизма порфиринов в виде повышения содержания предшественников порфиринов – δ-аминолевулиновой кислоты (АЛК) и порфибилиногена (ПБГ), а также вторичной копропорфиринурии (ВКПУ), которые регистрируются при хронических заболеваниях печени, в том числе и при НАЖБП [13; 44; 64]. Обнаружено негативное влияние неспецифических нарушений порфиринового обмена на течение и прогноз хронических заболеваний печени [41]. Ввиду социальной значимости НАЖБП нам представляется актуальным дальнейшее изучение проблемы НАЖБП с генетических позиций. В научной литературе имеются единичные сведения по изучению особенностей клинической картины заболевания, липидного, углеводного, порфиринового обмена, показателей обмена железа [13], а также на фоне носительства мутантных аллелей С282У и Н63D гена HFE [106].

Цель исследования

Определить частоту носительства мутантных аллелей 282У и 63D гена HFE при НАЖБП в сравнении с лицами общей популяции и выявить особенности в обмене показателей железа, липидов, порфиринов и углеводов, установить возможные ассоциации между ними.

Задачи исследования.

1. Сравнить частоту мутаций 282У и 63D гена HFE в группе с неалкогольной жировой болезнью печени и контрольной популяционной группой.
2. Оценить предрасположенность к нарушениям обмена железа, липидов, порфиринов, углеводов на фоне носительства мутантных аллелей 282У и 63D гена HFE.
3. Определить особенности метаболических расстройств при неалкогольной жировой болезни печени на фоне носительства мутантных аллелей 282У и 63D гена HFE.

Научная новизна

Впервые установлено, что у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени нарушения в обмене железа преимущественно регистрируются на фоне носительства мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE. Впервые показано, что более выраженные нарушения порфиринового обмена преимущественно регистрируются у пациентов с мутациями в гене HFE. В структуре латентных и/или неклассифицированных нарушений порфиринового обмена впервые верифицирован биохимический синдром уропорфирурии и комбинированные нарушения. Впервые в результате проведенной комплексной оценки состояния порфиринового обмена у больных неалкогольной жировой болезнью печени констатировано, что наиболее информативным является определение экскреторного профиля показателей порфиринового обмена: предшественников порфиринов (аминолевулиновая кислота и порфобилиноген) и фракций порфиринов (уропорфирин и копропорфирин). Каждый вариант расстройств имеет качественные и количественные изменения. Показано, что расстройства липидного обмена выявлены у всех обследованных пациентов и не зависят от наличия мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE. Впервые установлено, что инсулинорезистентность и гиперинсулинизм более выражены у пациентов неалкогольной жировой болезнью печени на фоне мутаций аллелей C282Y и H63D гена HFE. Впервые выявлено наличие взаимосвязи инсулинорезистентности, нарушений порфиринового обмена и носительства мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявление носительства мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени позволяет выделить группы пациентов с повышенным риском развития нарушений обмена железа. В результате проведенного исследования выявлена высокая частота нарушений порфиринового обмена при неалкогольной жировой болезни печени. В оценке состояния порфиринового обмена наиболее информативным является

определение экскреторного профиля. Это позволяет регистрировать расстройства на уровне как предшественников порфиринов (аминилевулиновая кислота и порфобилиноген), так и на уровне фракционных расстройств (повышение экскреции фракций уропорфирина, копропорфирина и нарушения их соотношения). Тестирование на наличие мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE дает возможность регистрировать данные нарушения на ранних стадиях заболевания. Доказанная ассоциация носительства аллелей 282Y и 63D гена HFE с инсулинорезистентностью позволяет выделить группы пациентов для профилактики формирования неалкогольной жировой болезнью печени.

Методология и методы диссертационного исследования

Настоящая работа выполнена согласно принципам доказательной медицины. Основной методологии диссертационной работы стали данные ранее проведенных российских и зарубежных исследований и последовательное применение методов научного познания. В ходе работы были применены клинические методы исследования (осмотр, антропометрия, функциональные исследования), лабораторные (оценка показателей липидного, углеводного, порфиринового, обмена железа). Тестирование на наличие мутантных аллелей 282Y и 63D) и стандартные статистические методы.

Положения, выносимые на защиту

1. Мутантные аллели 282Y и 63D гена HFE обнаружены у 32,1 % пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, а у лиц в общей популяции в 33,9 % случаев.
2. Неалкогольная жировая болезнь печени часто сопровождается нарушениями порфиринового обмена, особенно на фоне носительства мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE (80,3 % случаев), а степень выраженности нарушений существенно выше, чем у пациентов без мутаций.
3. Степень выраженности инсулинорезистентности выше у пациентов с мутациями гена HFE

4. Нарушения в обмене железа при наличии мутаций гена HFE имеют качественные и количественные отличия.

Степень достоверности

Достоверность результатов исследования обеспечена обоснованностью исходных теоретических позиций, использованием апробированных лабораторных и инструментальных методов, сертифицированных наборов реагентов, применением современной компьютерной программы для статистической обработки полученных данных, а также достаточным количеством пациентов и формированием групп сравнения. Основная группа пациентов с НАЖБП состояла из 112 больных, группа сравнения (группа здоровых добровольцев 342 человека) включена в исследование на основании анализа случайной выборки жителей г. Новосибирска, постоянно проживающих на территории Западно-Сибирского региона.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на 14-м Славяно-Балтийском форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2012» (Санкт-Петербург, 2012), 18-й Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2012), 39-й сессии Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии (Москва, 2013), 15-м Славяно-Балтийском форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2013» (Санкт-Петербург, 2013), 22-й Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2016), 21-м международном конгрессе «Гепатология сегодня» (Москва, 2016), 18-м международном Славяно-Балтийском форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2012» (Санкт-Петербург, 2016), 23-й объединенной российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2017).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения внутренних болезней» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2017).

Диссертация выполнена в соответствии с темой научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Проблемы кардиосоматической патологии в клинике внутренних болезней», номер государственной регистрации 01201175649

Внедрение результатов исследования в практику

Методы исследования показателей порфиринового обмена и результаты оценки полиморфизма аллелей C282Y и H63D гена HFE внедрены в работу терапевтических отделений ГБУЗ НСО ГКБ № 1 (г. Новосибирск). Материалы диссертации используются в лекционном курсе и практических занятиях на кафедре факультетской терапии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, в работе областной школы врачей-гериатров.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 7 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала, приложений. Полученные результаты проиллюстрированы 6 рисунками и 9 таблицами. Список литературы представлен 219 источниками (74 отечественных и 145 зарубежных).

Личный вклад автора

Вклад автора состоял в отборе больных для исследования по критериям включения и исключения, в обследовании больных и наборе клинического первичного материала, в подготовке материала для биохимического исследования, в формировании базы данных, их обработке, обобщении и статистическом анализе.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Неалкогольная жировая болезнь: определение

Неалкогольная жировая болезнь печени представляет гетерогенную группу поражений печени. Поэтому понятие о НАЖБП включает целый спектр заболеваний: жировую дистрофию или стеатоз печени, жировую дистрофию с воспалением и повреждением гепатоцитов или неалкогольный стеатогепатит, фиброз с возможностью прогрессирования и исходом в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному. Необходимо отметить, что пациенты с данной патологией не употребляют этанол в гепатотоксических дозах (не более 40 г этанола в сутки для мужчин и не более 20 г – для женщин) [34].

С исторических позиций необходимо подчеркнуть, что первые сведения об этом заболевании в России опубликованы в 1949 году А. Л. Мясниковым, который у части больных сахарным диабетом (СД) регистрировал гепатомегалию. Функция печени при этом нарушалась редко и была им обозначена как «гепатодистрофия» [53]. Только спустя 12 лет Н. Thaler в 1957 году также у больных СД выявил крупно- и мелкокапельную жировую дистрофию гепатоцитов. Эти изменения соответствовали морфологической картине алкогольному поражению печени. Классическая работа J. Ludvig и соавт. (1980), в которой было доказано, что в нематоцитах могут возникать сходные изменения, не связанные с употреблением этанола. Это исследование стало отправной точкой для начала разноплановых, широкомасштабных исследований по проблеме НАЖБП. Отечественные гастроэнтерологи на основании многолетних наблюдений обосновали концепцию о «новых» формах хронических заболеваний печени, в основе которых лежат метаболические расстройства [2; 33; 38].

Таким образом, НАЖБП в настоящее время рассматривается как самостоятельное заболевание, имеющее характерные клинико-биохимические расстройства и морфологические изменения. Заболевание включено в группу

патологических состояний печени, в основе которых лежат метаболические нарушения [16; 48; 70].

1.1.1 Эпидемиология неалкогольной жировой болезни печени. Возрастные и гендерные особенности

На современном этапе НАЖБП является предметом многочисленных исследований врачей различных специальностей, поскольку оценивается как самая распространенная патология в структуре заболеваний печени [60]. Считается, что среди населения промышленно развитых стран НАЖБП составляет около 10–25 % [99; 219]. Однако точных сведений о ее распространенности нет. По последним данным американских авторов [181; 184] в США НАЖБП страдают от 20 до 46 % взрослого населения. В Италии заболевание в общей популяции обнаруживается в 16 %, а у лиц с ожирением – в 76 % [180]. Высокая распространенность НАЖБП – от 21 до 27,3 % зарегистрирована и в ведущих индустриальных странах Юго-Восточной Азии: Китай [118; 182], Япония [131], Корея [178]. В Российской Федерации эпидемиологическое исследование DIREG_L_01903, проведенное в 2007 году, показало, что НАЖБП выявляется у 26,1 % пациентов, из них у 79,9 % обнаруживается стеатоз печени, у 17,1 % – стеатогепатит и у 3 % – цирроз печени [23]. Известно, что НАЖБП не имеет этнических, географических, популяционных особенностей и может встречаться в любом возрасте [56].

Неалкогольная жировая болезнь печени выявляется во всех возрастных группах, ее частота увеличивается с возрастом больных, клинически обычно манифестирует в 45–60 лет. Заболевание может обнаруживаться и у молодых пациентов в возрасте 10–20 лет [189; 192]. Фундаментальные исследования, посвященные данной проблеме, были опубликованы J. R. Moran с соавт. в 1983 году и A. Kinugasa с соавт. в 1984 году. В последующем было доказано, что проблема, связанная с ожирением и НАЖБП у детей и подростков распространена повсеместно [137; 140]. Показано, что выраженность гистологических изменений

в биоптатах печени может варьировать от начальных стадий фиброза до цирроза печени [162; 187]. Отмечено, что в детском возрасте НАЖБП формируется преимущественно у мальчиков [137; 172], причём, заметно чаще европейского происхождения [141]. Данные литературные сведения позволяют сделать предположение, что НАЖБП может иметь генетическую предрасположенность к данному заболеванию.

Среди взрослого населения НАЖБП несколько чаще встречается у женщин (63 %–83 %) [28; 29; 38; 189; 203]. До конца не установлено, что способствует большему распространению НАЖБП среди женщин. Склоняются к мнению, что этому могут способствовать особенности гормонального фона и/или более высокая частота ожирения [187]. Отмечено, что у молодых женщин, страдающих поликистозом яичников, нередко НАЖБП выявляется как сопутствующая патология особенно на фоне метаболического синдрома [9].

Вместе с тем, в последнее время стала отмечаться обратная тенденция. Так J. Dixon и соавт. (2001), P. Logia и соавт. (2003) с одинаковой частотой наблюдали НАЖБП и у мужчин, и у женщин. За последние 10 лет отмечается рост распространенности НАЖБП среди мужчин среднего возраста, об этом пишет S. Bellentani (2010). По данным Browning J. и соавт. (2004), Lazo M. и соавт. (2008) в США среди урбанизированного населения НАЖБП наблюдается в 2–3 раза чаще у мужчин, что связано с большей распространённостью у них ожирения и СД 2 типа [101; 165]. Аналогичные данные констатировали и Vedogni G. с соавт. (2005) – авторы регистрировали НАЖБП у 53 % мужчин в общей популяции обследованных, а Vernon G. и соавт. (2011) при анализе эпидемиологических исследований отмечают, что принадлежность к мужскому полу является фактором риска НАЖБП.

1.1.2 Классификация неалкогольной жировой болезни печени

Неалкогольная жировая болезнь печени становится самым распространенным заболеванием печени в развитых и развивающихся странах. Поэтому в международной классификации болезней (МКБ – 10) выделена рубрика – К 76.0 жировая дегенерация печени, которая не классифицируется в других рубриках. Это позволяет констатировать, что НАЖБП рассматривается как самостоятельное заболевание.

Неалкогольная жировая болезнь печени – собирательный термин, объединяющий несколько клинико-морфологических состояний: жировую дистрофию (простой стеатоз печени), жировую дистрофию с воспалением и повреждением гепатоцитов (неалкогольный стеатогепатит) и фиброз с возможностью прогрессирования с исходом в цирроз печени [34; 73].

Современная классификация НАЖБП основана на фундаментальных исследованиях морфологов Е. М. Brunt с соавт. (1999) и С. А. Matteoni с соавт. (1999). Основные клинико-морфологические составляющие стадий НАЖБП имеют следующие характеристики:

1) Стеатоз печени. В научной литературе используются и другие термины для данной стадии НАЖБП: жировой гепатоз, жировая дистрофия печени, жировая печень и другие [40]. Это самая распространенная форма. Регистрируется у каждого второго пациента с ожирением, СД 2 типа и дислипидемией [109; 148]. Гистологически характеризуется крупнокапельной жировой дистрофией гепатоцитов, без фиброза, с минимальными воспалительными изменениями. На этой стадии НАЖБП, как правило, отличается не прогрессирующим течением болезни.

2) Неалкогольный стеатогепатит. Характеризуется, как правило, бессимптомным повышением активности ферментов цитолиза (аминотрансфераз) [6; 59]. Морфологические изменения становятся более выраженными – на фоне крупнокапельной жировой дистрофии формируются умеренные централобулярные смешанные воспалительные инфильтраты, умеренный фиброз.

Отмечается медленное прогрессирующее течение болезни, что в ряде случаев может привести к формированию цирроза печени.

3) Цирроз печени – заключительная стадия заболевания. Длительное время считалось, что НАЖБП протекает доброкачественно. Однако, А. Е. Mendiola и R. G. Risk (2000), а также J.M. Clark и A.M. Diehl (2003) показали, что у 27 % больных фиброз печени может сформироваться в течение 10 лет, а у каждого пятого пациента – цирроз печени различной степени выраженности. По мнению А. И. Хазанова (2005) около 80 % криптогенного цирроза печени является исходом НАЖБП. Гистологическая картина на этой стадии резко изменяется. На фоне жировой инфильтрации развиваются субмассивные центральные или мостовидные некрозы со смешанными воспалительными инфильтратами. Формируются узлы регенерации и нарушается анатомическая архитектоника печени.

1.1.3 Ведущие патогенетические механизмы формирования неалкогольной жировой болезни печени и ее клиническое значение

Этиологические причины и патогенетические механизмы формирования НАЖБП полностью не известны. Большинство авторов с учетом современных позиций придерживаются концепции «двух ударов», которая была предложена С. Day и О. James в 1998 году. Первый «удар» обусловлен накоплением жира в гепатоцитах и формировании стеатоза печени. Это происходит, когда количество жира превышает 10 % сухой массы гепатоцита и начинают формироваться специфические морфологические изменения [56]. Второй «удар» обеспечивается оксидативным стрессом, перекисным окислением липидов. Данные патофизиологические процессы активируются при определенных условиях, при обязательном наличии ряда необходимых факторов. Важнейшими из которых являются гиперлипидемия, развитие СД 2 типа, прогрессирование абдоминального ожирения. На этом этапе ведущим становится воспаление и некроз гепатоцитов, формирование стеатогепатита с развитием фиброза печени

[56]. Другим ключевым патофизиологическим механизмом, участвующим в формировании и прогрессировании НАЖБП является инсулинорезистентность (ИР). Именно ИР в последние годы придается все большее значение [35; 78; 98; 158].

При НАЖБП ожирение, СД 2 типа, ИР, гипертриглицеридемия являются наиболее характерными и прогностически значимыми факторами риска (ФР), на фоне которых формируются специфические морфологические изменения в гепатоцитах [37; 179]. Ведущей гипотезой патогенеза НАЖБП считают формирование ИР [142; 213]. Инсулинорезистентность является универсальным патофизиологическим механизмом, который может индуцировать различные биохимические расстройства. Отмечена заметная роль ИР в формировании расстройств порфиринового обмена при НАЖБП [13].

Неалкогольная жировая болезнь печени нередко ассоциируется с другими синдромами и заболеваниями, в частности, с метаболическим синдромом [9; 19; 24], патологией сердечно-сосудистой системы – ишемическая болезнь сердца (ИБС) и артериальная гипертензия (АГ), с расстройствами углеводного обмена [39; 78; 183; 204], ожирением [101; 116], желчнокаменной болезнью [12] и другими патологическими состояниями [114].

Анализ литературы последних лет свидетельствует, что НАЖБП все чаще рассматривается как серьезное заболевание. Доминирующей проблемой часто становится прогрессирующее поражение печени, что оценивается как потенциальная причина прогрессирования печеночной недостаточности с возможным развитием цирроза печени [23; 74]. Неалкогольную жировую болезнь печени также рассматривают как вероятный фактор риска развития гепатоцеллюлярной карциномы [110]. У пациентов с НАЖБП имеются серьезные сопутствующие заболевания, которые нередко могут быть причиной летального исхода [174].

1.2 Критерии диагностики неалкогольной жировой болезни печени

Для НАЖБП к настоящему времени не определены специфические диагностические критерии. Поэтому заболевание верифицируется по совокупности ряда клинических, биохимических и инструментальных методов обследования. В 2012 году Научным Советом по терапии Российской Федерации [16] и в 2016 году Российским обществом по изучению печени [35] были разработаны алгоритмы обследования пациентов с целью установления диагноза НАЖБП, которые были рекомендованы врачам общей практики.

С учётом этих рекомендаций диагностика НАЖБП основывается на совокупности определенных признаков.

1. Оценка антропометрических показателей: рост, вес, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ), окружность бедра (ОБ), отношение ОТ к ОБ (ОТ/ОБ).

2. Клинический анализ крови.

3. Биохимический анализ крови. Допускается повышение аланиновой аминотрансферазы (АлАТ) и аспарагиновой аминотрансферазы (АсАТ) до 2–4 норм в сыворотке крови, гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП) – не более 2 норм, может констатироваться повышение щелочной фосфатазы (ЩФ) и общего билирубина.

4. Оценка показателей гемостаза – протромбинового времени.

5. Определение глюкозы, инсулина в крови натощак и расчёт индекса ИР Homeostasis Model Assessment (НОМА-IR).

6. Исследование липидного профиля: триглицериды (ТГ), холестерин липопротеидов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП).

7. Отсутствие серологических маркёров вирусного гепатита В (HBsAg) и вирусного гепатита С (АТ-НСV).

8. Отсутствие маркёров аутоиммунного поражения печени: антинуклеарных антител, антител к гладкой мускулатуре и антимитохондриальных антител.

9. Общий анализ мочи.

Вышеперечисленные критерии были обоснованы отечественными гастроэнтерологами [34; 66] и зарубежными авторами [106; 173].

10. Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости. Наиболее распространенный и неинвазивный метод диагностики НАЖБП уже на стадии стеатоза печени. Чувствительность метода составляет 89 %, специфичность – 93 % [8]. Автор D. Ressayre и соавт. (2000) выделяют следующие ультрасонографические признаки стеатоза, которые могут обнаруживаться в различных комбинациях:

- а) гиперэхогенность ткани печени или «яркость»;
- б) усиление эхоплотности печени, данный эхопризнак возрастает с накоплением жира в гепатоцитах;
- в) снижение звукопроводимости эхосигнала;
- г) снижением звукопроводимости эхосигнала;
- д) диффузная гиперэхогенность;
- е) нечеткость и обеднение сосудистого рисунка;
- ж) гепатомегалия.

При наличии факторов риска НАЖБП диагностика стеатоза повышается. В частности, при дислипидемии – до 32 %, а при метаболическом синдроме – до 48 % [119], но уже при наличии СД типа 2 – до 75 % случаев [129; 130]. Появление и/или обнаружение признаков портальной гипертензии (асцит, спленомегалия, увеличение диаметра портальной вены более 11 мм, а селезеночной более 10 мм) свидетельствует о формировании цирроза печени.

11. Биопсия печени и/или проведение неинвазивных методов оценки фиброза печени: тест фибромакс, эластометрия печени. Именно последние методики неинвазивной оценки стадии фиброза печени у пациентов с НАЖБП стали приоритетными у клиницистов гепатологов для диагностики НАЖБП [28].

1.3 Обменные нарушения при неалкогольной жировой болезни печени

1.3.1 Нарушение функции печени

По данным биохимического анализа крови у части пациентов могут быть обнаружены отклонения от нормы ряда показателей, свидетельствующие о поражении печени. В большинстве случаев наблюдается повышение aminотрансфераз. Активность aminотрансфераз в сыворотке крови обычно не превышает 4–5 норм. В большинстве случаев преобладает активность АлАТ [116; 122; 138]. Важно оценивать соотношение aminотрансфераз АсАТ/АлАТ (коэффициент Де Ритиса). В норме соотношение менее одного. Учет этого соотношения может быть полезным в дифференциальной диагностике алкогольного поражения печени. Если коэффициент Де Ритиса более 1,4, то вероятность алкогольного поражения печени может составлять 70–78 % [64]. Степень повышения активности АсАТ и АлАТ не является точным показателем отражения тяжести процесса и не имеет отчетливой корреляции с выраженностью стеатоза и фиброза печени и напротив, даже нормальные показатели активности aminотрансфераз не исключают вероятность наличия выраженных морфологических изменений печени [16; 72; 127].

В 40 % случаев при НАЖБП может встречаться изолированное повышение активности гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП), а также щелочной фосфатазы. Повышение активности этих ферментов не превышает 2 норм. Примерно в 20 % случаев выявляется умеренное повышение содержания общего билирубина до 1,5–2 норм [171].

1.3.2 Расстройства углеводного обмена

Пациентам с НАЖБП в обязательном порядке исследуют показатели углеводного обмена. Оценивают уровень глюкозы натощак и через 2 часа после еды, что позволяет зарегистрировать прандиальную и постпрандиальную гипергликемию. По показаниям проводят тест толерантности к глюкозе. С целью диагностики ИР определяют уровень инсулина натощак. Значение показателя более 18 мкЕд/мл расценивают как базальную гиперинсулинемию. Одновременно рекомендуется определять С-пептид, повышенный уровень которого подтверждает наличие гиперинсулинемии [82; 96]. Необходимо проводить расчет индекса ИР НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance). Наличие ИР диагностируется при получении значения выше 2,27 [35]. Дополнительно рекомендуется определение индекса Саго (отношение глюкозы плазмы в моль/л к уровню инсулина натощак в мкЕд/мл). Значение индекса менее 0,33 подтверждает наличие ИР [195; 197].

Начальные расстройства углеводного обмена (прандиальная и постпрандиальная гипергликемия, нарушение толерантности к глюкозе), а также СД типа 2 у пациентов НАЖБП регистрируются в 20 % случаев [32]. Вместе с тем НАЖБП рассматривают как фактор риска возникновения расстройств углеводного обмена. Ранние нарушения углеводного обмена и СД типа 2 у таких больных могут обнаруживаться в 20–40 % случаев [175].

1.3.3 Расстройства липидного обмена

Всем пациентам с НАЖБП исследуют показатели липидного обмена, признаки нарушения которого выявляются в 80 % случаев [38]. Дислипидемия выступает как характерная черта заболевания. Патофизиологическими механизмами возникновения нарушений липидного обмена при НАЖБП являются:

- во-первых, избыточное поступление в печень свободных жирных кислот

(СЖК);

- во-вторых, снижение скорости β -окисления СЖК в митохондриях гепатоцитов;
- в-третьих, избыточное образование и всасывания СЖК в кишечнике;
- в-четвертых, нарушение синтеза липопротеинов разной плотности в самой печени [38].

При этом формируются диагностически значимые отклонения в липидном обмене, которые необходимо учитывать при диагностике НАЖБП:

- а) повышение содержания триглицеридов (ТГ) более 1,7 ммоль/л, данный тип нарушений липидного обмена выявляется у 50–80 % пациентов [9];
- б) снижение уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП): менее 1,0 ммоль/л у мужчин и менее 1,2 ммоль/л у женщин [16; 18];
- в) гиперхолестеринемия, которая выявляется несколько реже [26; 198].

1.3.4 Нарушения обмена железа

Нарушения в обмене железа при НАЖБП наблюдаются значительно реже, чем расстройства углеводного и липидного обмена. У 20–50 % таких пациентов может регистрироваться высокое содержание в сыворотке крови ферритина и железа, имеет место и высокое насыщение железом трансферрина. При этом не было обнаружено гистологических признаков идиопатического наследственного гемохроматоза [168; 176].

Одной из немногочисленных работ, посвященных проблеме метаболизма железа при НАЖБП, является исследование проведенное S. Fargion и соавт. (2001). Авторы сообщили, что расстройства в обмене железа могут ассоциироваться с ИР и дислипидемией. Обнаружена ассоциация ИР с повышением уровня ферритина в сыворотке крови [89; 177]. Ряд авторов считает, что эти процессы могут заметно активизировать процессы фиброгенеза и формирование фиброза печени [96].

Отклонения в обмене железа несколько чаще могут регистрироваться при

других заболеваниях печени, в частности при алкогольных и вирусных поражениях печени [2]. Вместе с тем эти нарушения, как правило, ассоциируются с генными мутациями. Автором Е. А. Кулагиной и соавт. (2009) было показано, что в 30 % случаев нарушения в обмене железа при вирусных гепатитах характеризуются развитием синдрома перегрузки железа и ассоциируются с полиморфизмом гена HFE. Нарушения в обмене железа обычно связывают с гетеро- или гомозиготным носительством мутаций (С282У и Н63D) гена гемохроматоза HFE. До 70 % больных с нарушением порфиринового обмена, в частности поздней кожной порфирией, имеют такие расстройства [89; 91]. При НАЖБП такие исследования целенаправленно не проводились.

1.3.5 Расстройства порфиринового обмена

Порфирины представляют собой органическое соединение, принадлежащее к группе тетрапирролов с замкнутой цепью. В основе структуры порфиринов лежит кольцо порфирина состоящее из 4 пирролов, соединенных между собой метиновыми группами (=СР-) [7]. Порфирины широко распространены в природе. Прежде всего, это хлорофилл – пигмент растений, с помощью которого растения улавливают световую энергию и осуществляют фотосинтез, а также гем – комплекс в составе гемоглобина, транспортирующий кислород к тканям организма [57].

Способностью синтезировать порфирины обладает каждая клетка, хотя основное количество их у человека и животных образуется в эритроблестах костного мозга и гепатоцитах печени. В костном мозге порфирины, формируя комплекс с ионами железа (гем), используются преимущественно для образования гемоглобина, а в печени – каталазы, пероксидаз и цитохромов [107; 212].

Биосинтез порфиринов связан с двумя взаимодействующими обменными циклами – циклом трикарбоновых кислот Кребса и сукцинатно-глициновым циклом Шемина. Исходными метаболитами, из которых под контролем сложной ферментативной системы на конечном этапе образуется гем, является

сукцинил-КоА и глицин. В ходе реакции между этими метаболитами образуется δ -аминолевулиновая кислота (δ -АЛК). На втором этапе из 2 молекул δ -АЛК под контролем фермента дегидратазы АЛК синтезируется молекула порфобилиногена (ПБГ). В дальнейшем из 4 молекул ПБГ формируется тетрапирольная молекула уропорфириногена. Этот этап биосинтеза порфиринов в норме осуществляется под действием 2 ферментов – синтетазы уропорфириногена и косинтетазы уропорфириногена [44; 45].

Расстройства порфиринового обмена могут вызывать следующие причины:

1) Хроническая интоксикация тяжёлыми металлами. Литературные данные свидетельствуют, что до 50 % больных с нарушением обмена порфиринов в избыточных концентрациях подвергались воздействию на организм свинцом, ртутью, кадмием и другими веществами [42; 65; 123].

2) Применение лекарственных средств. Лекарственные препараты нередко могут выступать в качестве факторов, провоцирующих манифестацию или рецидивы острых порфирий [108], М. Р. Мур (1992) на основании данных литературы приводит перечень 238 лекарственных препаратов, потенциально опасных при острых порфириях. Делается вывод, что представленная информация о лекарственных препаратах не является окончательной, поскольку современная фармакология ежегодно пополняется новыми фармакологическими средствами, действие которых на обмен порфиринов требует специальных исследований. Медикаментозные препараты как факторы, провоцирующие манифестацию или рецидивы хронических порфирий, в частности поздней кожной порфирии (ПКП), упоминаются в литературе реже. При поздней кожной порфирии убедительно обоснована роль, как одного из причинных факторов, эстрогенов, висмута и ртути, барбитуратов, гризеофульвина, новокаина, карбамазепина, анестезирующих средств [36].

3) Действие этанола (алкоголь). Роль данного фактора в отношении возникновения расстройств порфиринового обмена у большинства авторов не вызывает сомнений. До 70–90 % больных со специфическими и неспецифическими нарушениями порфиринового обмена систематически

подвергаются хронической алкогольной интоксикации [81; 111; 205; 212].

1.4 Полиморфизм генов-кандидатов при заболеваниях внутренних органов

Развитие современной теоретической и практической медицины характеризуется неуклонно возрастающим применением генетических методов. Это связано с несколькими обстоятельствами. Важнейшим из них является то, что прогресс в понимании этиологии и патогенеза ряда распространенных заболеваний (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, болезни печени, сахарный диабет, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и др. болезни) свидетельствует о существенном значении наследственного предрасположения в возникновении таких форм патологии [10].

В экспериментальных работах, исследуя геном и фенотипические проявления у инбредных линий мышей, исследователи сумели идентифицировать более 20 LITN генов у мышей. Поскольку обнаружена высокая гомология между геномами мыши и человека, то в экспериментальных исследованиях на мышах можно определить ортологичные LITN гены человека. Это дает возможность использовать новые принципы диагностики и прогноза различных заболеваний у человека [149]. Поэтому одной из приоритетных задач современной медицины является поиск лечебно-диагностических подходов у пациентов с патологией внутренних органов [11]. В одном из первых отечественных исследований было показано, что распределение аллелей I и D гена АПФ в популяции жителей Западной Сибири соответствует распространению, характерному для европейских стран [17]. В настоящее время осуществляются широкомасштабные генетические исследования с целью идентификации определенных генов, ассоциирующихся с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний [4; 50; 85]. Генетические полиморфизмы генов-кандидатов обуславливают особенности ферментов и рецепторов, которые проявляются количественными и/или качественными изменениями белковой структуры гена, и в сочетании со

специфическими экзогенными и эндогенными воздействиями формируют широкую вариабельность патологических состояний. Установлено около 2,5 млн полиморфизмов отдельных нуклеотидов, при изучении которых возможно выявление генов, позволяющих предсказать развитие определенной болезни, в частности инфаркта миокарда в молодом возрасте [115]. Установлено, что у пациентов с острым инфарктом миокарда при наличии полиморфизма аллели Val34Leu гена фактора XIII может отмечаться меньший эффект от тромболитической терапии [200; 209]. Изучались роль генетических факторов в развитии некоторых клинических проявлений ишемической болезни сердца (ИБС), в частности, такого явления как коронарный спазм. Выявлена достоверная ассоциация вазоспазма у мужчин с SNP гена p22phox NAD (Ф) оксидазы и у женщин с полиморфизмом генов стромелизина-1 и интерлейкина-6, полиморфизм гена NO-синтетазы ассоциируется с рестенозом стентированных коронарных артерий [125]. Верифицированы генетические маркеры неблагоприятного прогноза острого коронарного синдрома: rs 4804611, rs 2549513, rs 1333049, rs 499818, rs 10757278 [47]. Полиморфизм аллели E-786c гена NOS3 позволяет прогнозировать риск развития ИБС и ее неблагоприятное течение, а наличие полиморфизма по аллели G681A гена CYP2c19 ассоциируется с возможным риском резистентности к терапии клопидогрелем и аспирином [52]. Вместе с тем, при изучении полиморфизма гена фактора VII (аллели A1A2, R353Q, IVS7) не было выявлено ассоциации со степенью тяжести поражения коронарных артерий [128]. Эти же авторы отмечают, что инфаркт миокарда реже развивается при наличии полиморфизма аллелей A 2 и Q. Показано, что обнаружение полиморфизма кодирующих генов С-реактивного белка, аполипопротеина E может прогнозировать развитие осложнений после реваскуляризации миокарда [5].

Значительное количество работ было посвящено изучению полиморфизма различных генов у больных АГ. Зарегистрирована ассоциация полиморфизма гена ангиогензиногена аллель M235T с развитием АГ у представителей европеоидной расы, в то время как у афроамериканцев и китайцев данные

ассоциации не имеют существенного значения. Напротив, у японцев была отмечена заметная ассоциация полиморфизма гена рецепторов АП 1 типа А1166С с повышением артериального давления в утренние часы [94; 150].

При изучении коморбидных состояний при заболеваниях внутренних органов у больных с желчнокаменной болезнью и АГ отмечается, что при полиморфизме аллеля G гена ADRB1 имела место заметная выраженность гастроэнтерологической симптоматики, а при полиморфизме аллеля ε4 гена APOE – дислипидемия [59].

В ряде исследований сообщается об ассоциации генетических расстройств и метаболических нарушений при заболеваниях внутренних органов. Особое внимание привлекает генетический полиморфизм, влияющий на эффективность терапии статинами. Полиморфизм гена CYP4502D6, а также гена β-фибриногена 455 GA и Asp9Asn могут приводить к замедлению метаболизма симвостатина и увеличению его эффективности с одновременным увеличением частоты нежелательных явлений на прием препарата [143; 153].

Полиморфизм различных генов может также характеризовать особенности обменных нарушений. Зарегистрирована взаимосвязь при формировании полиморфизма в аллели APOE4 с высоким содержанием общего холестерина (ОХС) и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП) [83; 88; 102]. Имеются этнические особенности. Данные ассоциации не обнаружены у лиц латиноамериканской расы [117]. Ряд исследователей сообщают о возможных генетических мутациях, ассоциированных с расстройствами углеводного обмена [84].

1.5 Полиморфизм генов-кандидатов при хронических заболеваниях печени

При хронических заболеваниях печени проведение генетических исследований позволяет не только идентифицировать конкретные гены-кандидаты, ассоциирующиеся с той или иной патологией печени, но и

позволяет прогнозировать течение заболевания, а также риск возникновения осложнений. При этом генетические маркеры могут определять не только подверженность заболеванию в целом, но и ассоциироваться с конкретными патогенетически значимыми признаками. В частности, И. А. Гончаровой и соавт. (2004) было доказано, что при хроническом вирусном гепатите полиморфизм по аллели Ile50Val гена IL4RA ассоциируется с повышенным риском формирования и прогрессирования фиброза печени.

При алкогольной болезни печени изучение полиморфизма гена ангиотензиногена рассматривается как повышенный биологический риск алкогольной зависимости и алкогольного цирроза печени (аллель T174M). Возникновение полиморфизма в аллели M235T влияет на течение алкогольного цирроза печени. При сочетании генотипов ADT2-1/1 и TT ангиотензиногена T174M у пациентов с алкогольным циррозом печени наблюдается заметное повышение активности АсАТ, ГГТП и более частое развитие кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода [3].

Генетические факторы, как вероятная причина, обсуждаются и при НАЖБП. Об этом косвенно могут свидетельствовать значительные этнические колебания в распространенности заболевания [185]. Отмечается низкая регистрация стеатоза печени у афроамериканцев [92] и, напротив, высокая среди мексиканцев, страдающих СД 2 типа [135]. По данным I. R. Willner и соавт. (2001) неалкогольный стеатогепатит часто выявляется среди ближайших родственников.

В последнее время появились исследования, доказывающие наследственные механизмы формирования НАЖБП. В этом направлении целенаправленно проводился поиск полиморфизма определенных генов, предположительно отвечающих за метаболизм липидов, оксидативного стресса, активность цитокинов [105].

В лабораторных экспериментах на различных линиях мышей были обнаружены полиморфизмы генов, отвечающих за липогенез в печени [124]. Позднее, в 2008 году S. Romeo и соавт., также в экспериментальных работах, показали, что при НАЖБП более высокое содержание жира в печени наблюдается

при замене изолейтина на метионин в позиции 148-й аллели rs 738409 в белке адипонутрин (PNPLA3), а при генотипе GG содержание ТГ в ткани печени в два раза выше. При изучении вариантов мутаций того гена (PNPLA3) S. Sookian и соавт. (2009) показали, что полиморфизм по аллели rs 738409 связан не только со степенью накопления жира в печени, но и с тяжестью повреждения гепатоцитов и формированием фиброза печени. Эти данные были подтверждены и другими авторами [138; 207]. Имеются сведения, что генетический полиморфизм гена PNPLA3 (аллель 148M) является независимым предикторным фактором прогрессирующего течения НАЖБП [54]. В ряде исследований было продемонстрировано, что предрасположенность к развитию НАЖБП может быть связана с носительством полиморфного гена ADIPOP1 (аллель rs 6666086) [10; 58]. К другим возможным генетическим факторам формирования НАЖБП относят белок CD36 – транслоказа, которая обеспечивает роль рецепторов в транспортировке СЖК и ЛПНП [153].

Идентификация гена HFE, который ассоциируется с развитием наследственного гемохроматоза, стало значимым открытием в молекулярно-генетических исследованиях. У пациентов с наследственным гемохроматозом в гене HFE обнаружен полиморфизм по двум аллелям C282Y и H63D [49; 67]. Ген HFE расположен в коротком плече 6-й хромосомы человека около кластера генов главного комплекса гистосовместимости – major histocompatibility complex класса I (MHC I) [76; 210]. Замена C282Y и H63D обеспечивают взаимодействие трансферринового рецептора с комплексом железа и трансферрина, т. е. регулируют состояние обмена железа [132]. Получены данные, которые свидетельствуют о высокой предрасположенности лиц европейской расы к нарушениям обмена железа и полиморфизм гена HFE у них регистрируется существенно чаще [61].

По современным представлениям у 50–100 % пациентов наследственный гемохроматоз ассоциирован с гомозиготным состоянием по аллели C282Y, при этом происходит замена цистина в позиции 282 на тирозин гена HFE [134]. Носители аллеля H63D имеют повышенную вероятность заболевания

спорадической формой поздней кожной порфирии [136; 208].

Имеются сообщения, что в 73 % случаев больные поздней кожной порфирией являются гетеро- или гомозиготными носителями мутантного гена гемохроматоза (HFE), в том числе 42 % мутаций по аллели C282Y и 31 % мутаций по аллели H63D. Повышенная частота этих мутаций при поздней кожной порфирии рассматривается как один из предрасполагающих факторов к развитию гиперсидеринемии и наряду с хронической HCV-инфекцией и алкогольными эксцессами, оценивается одним из совокупных условий, провоцирующих расстройства порфиринового обмена. Поэтому всем пациентам с поздней кожной порфирией обязательно должно проводиться обследование на мутации гена HFE и вирусный гепатит С [91; 176].

Отклонения в показателях содержания железа часто обнаруживаются при других хронических заболеваниях печени. Гиперсидеринемия обнаруживается у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В или С [34; 214]. Аналогичные нарушения обнаруживаются при неалкогольном стеатогепатите [166; 171], алкогольной болезни печени [122]. Необходимо отметить, что неклассифицированные расстройства порфиринового обмена у пациентов с НАЖБП регистрируются в 65,3 % случаев [13]. Исследования у этой категории пациентов на наличие полиморфизма аллелей C282Y и H63D гена HFE не проводились.

1.6 Резюме

Обобщая литературные сведения по неалкогольной жировой болезни печени можно выделить следующие положения:

1. Неалкогольная жировая болезнь печени многофакторное заболевание, патогенез которого полностью не изучен.

2. Проблеме неалкогольной жировой болезни печени посвящена обширная отечественная и зарубежная литература, в которой представлены различные аспекты данной проблемы. В частности, рассмотрены возрастные и гендерные

особенности заболевания. Представлены сведения, что неалкогольная жировая болезнь печени может чаще обнаруживаться у мужчин.

3. Обменные нарушения при неалкогольной жировой болезни печени преимущественно обусловлены расстройствами углеводного и липидного обмена. Одним из малоизученных видов обменных нарушений является дисметаболизм порфиринов, обнаруживаемый более чем у половины пациентов.

4. Представлены современные принципы диагностики неалкогольной жировой болезни печени.

5. Представлены сведения о широкомасштабных экспериментальных и клиничко-молекулярных исследованиях по идентификации определенных генов, ассоциирующихся с повышенным риском заболеваний внутренних органов. В этом отношении неалкогольная жировая болезнь печени не является исключением.

6. Показана взаимосвязь развития неалкогольной жировой болезни печени с полиморфизмом гена PNPLA3, кодирующего белок, участвующий в метаболизме триглицеридов.

7. Полиморфизм аллелей C282Y и H63D гена целенаправленно при неалкогольной жировой болезни печени не изучался.

ГЛАВА 2 ДИЗАЙН. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Основные этапы и дизайн исследования

Работа – результат исследований по научной теме «Проблемы кардиосоматической патологии в клинике внутренних болезней», разрабатываемой на кафедре факультетской терапии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России в рамках программы совместных научно-исследовательских работ Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины и Новосибирского государственного медицинского университета. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (протокол заседания № 6 от 16.10.2014 года). В исследование включено 454 человека на клинических базах ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, расположенных на территории ГБУЗ НСО ГКБ № 1 г. Новосибирска и Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие до начала обследования. В соответствии с целью и поставленными задачами была сформирована основная группа пациентов с НАЖБП, которая состояла из 112 больных. На основании анализа случайной выборки жителей г. Новосибирска (группа здоровых добровольцев), постоянно проживающих на территории Западно-Сибирского региона, была сформирована группа сравнения из 342 человек, обследованных в рамках программы «MONICA». Пациенты основной и добровольцы группы сравнения были лицами европейской расы. На следующем этапе исследования проводили определение генотипов HFE по полиморфным аллелям C282Y и H63D у больных НАЖБП и сопоставляли с результатами полученными в группе сравнения. Далее у пациентов НАЖБП оценивали состояние функции печени, углеводного, липидного, порфиринового и обмена железа. Независимо от наличия или отсутствия полиморфизма аллелей C282Y и H63D гена HFE у пациентов НАЖБП проведен сравнительный и

корреляционный анализ полученных результатов между выделенными группами.

Дизайн исследования – одномоментное сравнительное исследование в параллельных группах (рисунок 2.1.1).

2.2 Критерии включения и исключения больных из исследования

Критериями включения больных основной группы в исследование служил подтвержденный диагноз НАЖБП, согласно «Клиническим рекомендациям по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации» [35].

В исследование не включали пациентов с лекарственным поражением печени, алкогольной болезнью печени, циррозом печени любой этиологии, гепатотропной вирусной инфекцией, наркотической зависимостью, хронической обструктивной болезнью легких крайне тяжелой степени, острым инфарктом миокарда, острым коронарным синдромом, тяжелой сердечной недостаточностью (ФК_{III-IV} или НК_{III}), злокачественными заболеваниями, декомпенсированным СД с тяжелыми сосудистыми поражениями заболеваниями крови, манифестными нарушениями порфиринового обмена (манифестная поздняя кожная порфирия, острая перемежающаяся порфирия), интоксикациями цветными металлами (свинец, ртуть, кадмий и др.) в анамнезе, наследственными заболеваниями, в том числе у родственников, а также пациентов в возрасте старше 65 лет.

Набор пациентов, включенных в исследование, осуществлялся на клинической базе кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России на базе ГБУЗ НСО ГKB № 1 г. Новосибирска.

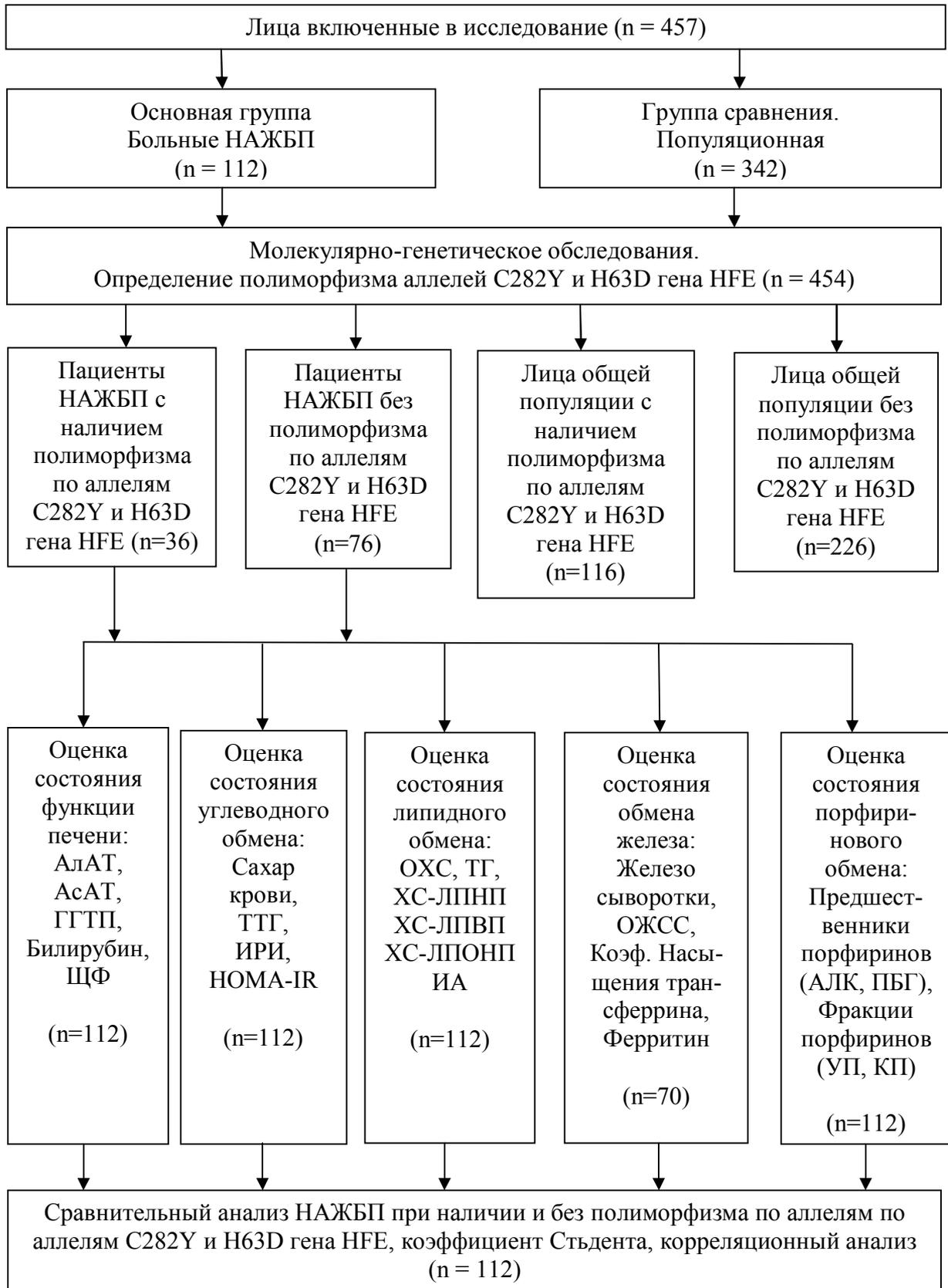


Рисунок 2.1.1 – Дизайн исследования

2.3 Характеристика пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени

Биохимические методы исследования проводились в клиничко-диагностической лаборатории Новосибирского областного диагностического центра (зав. отд. Клинова Т. В.) и лабораторного отделения ГБУЗ НСО ГКБ №1 г. Новосибирск (зав. отд. Повилихина Н. Ф.). Инструментальные методы исследования проводились в эндоскопическом отделении (зав. отд. д.м.н. Левицкий В. А.), отделении ультразвуковой диагностики (зав. отд. к.м.н. Лукша Е. Б.), рентгенологическом отделении (зав. отд. Шалыгин А. В.), отделении функциональной диагностики (зав. отд. Коваленко У. А.) ГБУЗ НСО ГКБ №1 г. Новосибирска.

По критериям включения в исследование отобрали 112 больных. Диагноз НАЖБП устанавливался с учетом «Клинических рекомендаций по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации» [35]. Тщательно оценивали личные анамнестические данные, а также семейный анамнез. Возраст больных на момент включения в исследование варьировался от 28 до 65 лет, средний возраст больных составил $(50,5 \pm 2,1)$ года. Среди наблюдавшихся больных мужчин было 81 (72,3 %), средний возраст $(47,2 \pm 1,8)$ года и женщин – 31 (27,7 %), средний возраст $(53,8 \pm 2,3)$ года. По возрасту больные распределились следующим образом: от 26 до 30 лет – 9 пациентов (8,0 %), от 31 до 50 лет – 39 пациентов (34,8 %), от 51 до 60 лет – 48 пациентов (42,9 %), пациенты старше 60 лет – 16 человек (14,3 %).

По современным литературным данным [38; 204; 217] НАЖБП чаще диагностируется у женщин. В нашем исследовании соотношение было в 2,5 раза в пользу мужчин, соответственно 81 человек (72,3 %) и 31 человек (27,7 %). Одной из вероятных причин этого различия является тот фактор, что женщин включали в исследование только при наступлении физиологической менопаузы. Это важно в том плане, что сохранение фертильной функции и прием оральных

контрацептивов может существенно изменить биохимические показатели, анализируемых в данном исследовании, в частности на показатели обмена железа и порфиринов.

Точное определение и установление сроков начала НАЖБП представляет определённые трудности ввиду длительного бессимптомного течения НАЖБП. Поэтому началом заболевания считали выявление данной патологии при контрольных медицинских обследованиях. Длительность заболевания у обследованных больных колебалась от 1–6 месяцев до 4 лет, в среднем по группе обследованных ($2,1 \pm 0,4$) года.

Исключалась гепатотропная вирусная инфекция. Определяли скрининговые маркеры вирусных гепатитов В и С. При их наличии больные не включались в исследование.

У всех больных имелась коморбидная патология внутренних органов. До установления диагноза НАЖБП пациенты наблюдались по поводу ряда заболеваний внутренних органов. По поводу ишемической болезни сердца (стенокардия напряжения ФК II-III, аритмический вариант, сердечная недостаточность, постинфарктный кардиосклероз) наблюдался 41 пациент от 3 до 10 лет, в среднем ($3,6 \pm 0,4$) года. Двум больным было проведено аортокоронарное шунтирование и шести – стентирование. По поводу артериальной гипертензии 64 пациента состояли на диспансерном учёте у терапевта в течение 2–11 лет, в среднем ($3,9 \pm 0,5$) года. У 12 пациентов артериальная гипертензия I-II стадии диагностирована впервые, а у 26 пациентов сочеталась с различными вариантами ишемической болезни сердца. По поводу СД типа 2 наблюдались и лечились у эндокринолога 48 больных в течение 1,5–10 лет, в среднем ($4,1 \pm 1,3$) года. В ходе обследования у 11 пациентов данное заболевание обнаружено впервые. У 14 человек выявлены начальные нарушения углеводного обмена (прандиальная гипергликемия и нарушение толерантности к глюкозе). Патология органов дыхания: бронхиальная астма эндогенная, на момент включения контролируемая, а также хроническая обструктивная болезнь легких I-II степени имелась у 23 человек. Заболевания органов пищеварения (язвенная

болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, эрозивный гастрит, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, желчнокаменная болезнь) выявлены у 32 человек.

Все обследованные больные имели сопутствующую патологию внутренних органов (заболевания сердечно-сосудистой и эндокринной системы, органов пищеварения и дыхания), по поводу которой им назначалась базисная терапия. Больные постоянно или курсами по поводу сочетанной патологии внутренних органов принимали препараты различных групп: нитраты короткого (по требованию) и пролонгированного действия, бета-блокаторы, дезагреганты (кардиомагнил, тромбо-асс, аспирин-кардио), синтетайзеры инсулина (метформин), статины (симвостатин, оторвастатин), курсами ингибиторы протонной помпы (омепразол, рабепразол, лансопрозол, пантопрозол), гепатопротекторы (адемитионин, фосфоглив, урсодезоксихолевая кислота).

У всех больных тщательно изучался медикаментозный анамнез. По данным Ш. Шерлок, Дж. Дули (1999) длительное применение некоторых препаратов (амиодарон, тетрациклин, аспирин, кортикостероиды) может способствовать развитию лекарственного гепатита с морфологическими изменениями, характерными для стеатоза печени. В этом плане целенаправленно проанализирован лекарственный маршрут у 8 больных НАЖБП с гипербилирубинемией (общий билирубин от 26,6 до 42,2 мкмоль/л, прямой билирубин от 6,4 до 12,2 мкмоль/л) и у 15 пациентов с признаками цитолитического синдрома, при котором активность АлАТ и АсАТ не превышала трех норм. Применение вышеперечисленных препаратов у них не установлено, в связи с чем, повышение уровня билирубина и активность аминотрансфераз были расценены как проявление НАЖБП. Особое внимание обращали на состояние печени в тех случаях, когда пациенты принимали статины, так как известен «статиновый гепатит». В подобных случаях проводили оценку состояния печени – ни у одного из 14 больных, принимавших статины, не обнаружено признаков гипербилирубинемии и цитолитического синдрома, при контрольных исследованиях не отмечалось их появления на приём статинов, отсутствовали

побочные эффекты. По данным Л. А. Звенигородской и соавт. (2009) появление таких нарушений наблюдается у 5 % больных, применяющих гиполипидемическую терапию, и оценивается как проявление лекарственного (статинового) гепатита.

Все больные относились к числу городских жителей. Среди них служащих было 38 (33,9 %), частных предпринимателей – 26 (23,2 %), временно неработающих – 32 (28,6 %), пенсионеров – 16 (14,3 %).

При проведении УЗИ брюшной полости использовали ультрасонографические критерии степени жировой дегенерации по С. С. Бацкому (1998), у всех больных с НАЖБП (n = 112) выявлены характерные ультразвуковые признаки стеатоза различной степени выраженности.

Для предиктивной неинвазивной диагностики и подтверждения стеатоза печени у пациентов с НАЖБП предлагается рассчитывать индексы, основанные на моделях соотношения клинических и лабораторных показателей пациента. Наиболее распространенной моделью оценки стеатоза является индекс HIS (Hepatic steatosis index), рассчитываемый по формуле:

$$\text{HIS} = 8 \times (\text{АлАТ} / \text{АсАТ}) + \text{ИМТ} + 2 \text{ (если женщины)} + 2 \text{ (если имеется СД)} \quad (2.3.1)$$

где: АлАТ/АсАТ – аланиновая аминотрансфераза/ аспарагиновая аминотрансфераза;

ИМТ – индекс массы тела;

СД – сахарный диабет.

Пороговое значение индекса HIS более 36,0 свидетельствует в пользу наличия стеатоза печени у пациента с чувствительностью 93,1 % и специфичностью 92,4 % [191]. Коэффициент HIS достоверно ($p < 0,001$) превышал контрольные значения в основной группе как у мужчин ($44,9 \pm 1,7$) при норме ($2,9 \pm 0,4$), так и у женщин ($46,3 \pm 1,4$) норма ($32,7 \pm 1,3$), что подтверждало у них наличие стеатоза печени.

В процессе диагностики НАЖБП необходимо исключить и другие причины

метаболических поражений печени. Одной из важнейших является алкогольная болезнь печени (АБП), развивающаяся при употреблении алкоголя в количестве более 20 г чистого этанола в день у женщин и более 40 г для мужчин. Учитывая сходство морфологической картины НАЖБП и АБП, особое внимание следует уделить уточнению алкогольного анамнеза, выявлению стигм систематического употребления избыточного количества алкоголя [128].

Практический опыт свидетельствует о том, что больные редко дают объективные сведения относительно своей привычки к употреблению алкоголя. Поэтому, дополнительно к личному анамнезу, для характеристики образа жизни больных использовали сведения, полученные от родственников и наблюдения за поведением этих больных в стационаре. Привычку к употреблению алкоголя оценивали по критериям, рекомендованным А. М. Калининой и соавт. (1988):

- 1) редко употребляющие алкоголь (несколько раз в год);
- 2) употребляющие алкоголь умеренно (не более 2–3 раз в месяц);
- 3) часто (не реже 1–2 раз в неделю);
- 4) систематически (ежедневно или 3–4 раза в неделю).

В исследование не включали пациентов, употребляющих алкоголь часто или систематически.

Ввиду сходства НАЖБП с алкогольной болезнью печени, у всех пациентов НАЖБП исключали алкогольное поражение печени. Проводилось анкетирование больных. Пациенты самостоятельно заполняли анкеты: «Тест для выявления скрытой алкогольной зависимости» и «Опросник CAGE»; модифицированный тест «Сетка Lego»; опросник AUDIT (Alcohol use disorders identification test), идентифицирующий расстройства, связанные с употреблением алкоголя и анкету ПАС (Постинтоксикационный алкогольный синдром) с детальной оценкой анамнеза заболевания и жизни (см. приложение А, Б, В, Г). Анкеты заполнялись исследователем при работе с пациентом в ходе его физикального, лабораторного, инструментального обследования.

Пациенты не включались в исследование, если одна из анкет давала положительный результат.

В обязательном порядке у больных НАЖБП оценивали биохимические маркеры, характеризующие этаноловое поражение печени:

1) углеводно-дефицитный трансферрин. Контрольные значения показателя от 2,0 до 3,6 г/л. Высокая концентрация в сыворотке крови свидетельствует о длительном употреблении этанола до 8–10 дней. У пациентов основной группы значения показателя варьировали от 2,18 до 3,37 г/л, среднее значение составило $(2,64 \pm 0,07)$ г/л;

2) гаммаглутамилтранспептидаза. При НАЖБП повышение ГГТП допускается до двух норм, особенно у пациентов с фоновой патологией – СД и сердечная недостаточность. При длительном употреблении этанола констатируется стойкое и более значимое повышение показателя в 50 % случаев;

3) оценка показателей цитолиза АлАТ и АсАТ. Их чувствительность при хронической этаноловой интоксикации не превышает 35 %. Однако более значимым считается соотношение АлАТ/АсАТ или коэффициент Де Ритиса. При его значении более 1,4 вероятность этаноловой интоксикации может составить 70–78 %. У пациентов основной группы показатель колебался от 0,43 до 1,12, в среднем соотношение АлАТ/АсАТ составило $(0,82 \pm 0,69)$.

2.4 Характеристика лиц группы сравнения (популяционная)

Группа сравнения (популяционная) сформирована на основе случайной выборки жителей г. Новосибирска из здоровых добровольцев, постоянно проживающих в Новосибирске (подобрана по возрасту в соотношении примерно 1:3, 1 случай : 3 контроля). В группу включено 342 человека, обследованных в рамках программы «MONICA», которые были прогенотипированы в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ на наличие и/или отсутствие аллелей С282У и Н63D гена HFE. Образцы ДНК и сведения о лицах группы сравнения были предоставлены ФГБНУ научно-исследовательским институтом терапии и профилактической медицины.

Все обследованные были лицами европейской расы. Возраст добровольцев

колебался в широких пределах (от 25 до 78 лет), средний возраст в целом по группе составил $(49,3 \pm 0,9)$ года. Среди включенных в группу сравнения мужчин было 181 человек (52,9 %), средний возраст $(47,9 \pm 0,9)$ года и женщин – 161 человек (47,1 %), средний возраст $(50,6 \pm 0,9)$ года. Распределение лиц популяционной группы по возрастным категориям было следующим: от 25 до 30 лет – 16 человек (4,7 %), от 31 до 50 лет – 162 человека (47,4 %), от 51 до 60 лет – 110 человек (32,1 %), старше 60 лет – 54 человека (15,8 %). Таким образом, большинство лиц в популяционной группе, как и в основной, также были в возрастной категории от 30 до 60 лет (272 человека, 79,5 %).

Для исследований сравнительного плана одним из обязательных условий их проведения, согласно рекомендациям доказательной медицины, является подтверждение сходства сравниваемых групп пациентов по клиничко-статистическим признакам. Поэтому прежде чем приступить к анализу полученных данных, мы провели предварительную оценку пациентов включенных в две группы: основную (пациенты НАЖБП) и группу сравнения (популяционная, практически здоровые добровольцы). Не отмечено в сравниваемых группах различий по полу. Мужчин в обеих группах было больше. В группе сравнения женщин было больше, чем в основной. Обусловлено это тем, что для проведения молекулярно-генетического обследования сохранение или прекращение фертильной функции не имеет принципиального значения, в отличие от изучения обменных нарушений. Распределение пациентов по возрасту оказалось идентичным, как в целом по группам и возрастным категориям, так и между мужчинами и женщинами. Причем возраст женщин был достоверно больше, как в основной группе ($p < 0,025$), так и в группе сравнения ($p < 0,05$). Таким образом, проведенный клиничко-статистический анализ указывает на идентичность сравниваемых групп по возрастным и гендерным параметрам.

2.5 Методы исследования больных

2.5.1 Методы исследования показателей липидного, углеводного обмена и показателей обмена железа

Все больные обследованы общепринятыми клиническими, клинико-лабораторными и биохимическими методами исследований, которые позволяют оценить функцию органов и систем организма.

С помощью анализаторов Beckman Coulter (США) определяли активность аланиновой (АлАТ) и аспарагиновой (АсАТ) трансаминаз, гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание общего билирубина и его фракций (конъюгированной и неконъюгированной), общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ).

Для оценки оптимальных значений липидных параметров в плазме крови были использованы Российские рекомендации (5-й пересмотр) «Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза», разработанные Комитетом экспертов Всероссийского научного общества кардиологов. За нормальный уровень ОХС принимали значения менее 5,0 ммоль/л, умеренно повышенный – от 5,0 до 5,9 ммоль/л, высокий – 6,0 ммоль/л и более. Согласно рекомендациям, оптимальным уровнем ОХС считали значения менее 5,0 ммоль/л. Уровень ТГ в норме не превышал 1,7 ммоль/л. На момент обследования 14 пациентов получали курсовое лечение статинами. В связи, с этим, при определении липидного спектра у этой категории больных полученные значения ОХС и ТГ оценивались как отсутствие и/или наличие дислипидемии и не использовались для расчёта средних величин и корреляционного анализа.

Определяли показатели липидного спектра:

1) холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП) – целевое значение выше 1,15 ммоль/л;

2) содержание холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП) рассчитывали по формуле: $TG/5$ (целевое значение менее 0,34 ммоль/л);

3) содержание холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по формуле Фридвальда:

$$\text{ХС ЛПНП мг/дл} = \text{ОХС} - (\text{ХС-ЛПВП} + \text{TГ}/5), \quad (2.5.1.1)$$

где ОХС – общий холестерин;

ХС ЛПНП – холестерин-липопротеиды низкой плотности;

ХС-ЛПВП – холестерин-липопротеиды высокой плотности;

TГ – триглицериды.

Целевое значение показателя менее 2,6 ммоль/л;

4) индекс атерогенности (ИА) вычисляли по формуле:

$$(\text{ОХС} - \text{ХС-ЛПВП})/\text{ХС-ЛПВП}, \quad (2.5.1.2)$$

где ОХС – общий холестерин;

ХС ЛПНП – холестерин-липопротеиды низкой плотности;

ХС-ЛПВП – холестерин-липопротеиды высокой плотности.

Состояние углеводного обмена у всех пациентов оценивали по уровню глюкозы капиллярной крови натощак с помощью моноглюкозоанализатора «Biosen 5030» (Германия) и исследовали в динамике. Дополнительно у части больных (47 человек) проводили стандартный тест толерантности к глюкозе (СТТГ) по общепринятой методике. При его выполнении соблюдали следующие условия: обследуемые в течение не менее трёх дней до пробы соблюдали обычный режим питания (с содержанием углеводов до 125–150 г в сутки) и придерживались привычных физических нагрузок. Для исследования использовалась венозная или капиллярная кровь. Методика выполнения стандартная: измерение у пациента уровня глюкозы крови натощак, затем в

течение 5 минут выпивался стакан глюкозы (75 г). Через 2 часа вновь измерялся уровень глюкозы крови. Полученные данные оценивали с учётом рекомендаций Комитета экспертов ВОЗ по классификации СД 1999 года и диагностическим критериям СД в модификации 2011 года [15]. Уровень глюкозы венозной и/или капиллярной крови натощак от 3,3 до 5,5 ммоль/л считали нормальным. Подтверждённое в динамике исследований содержание глюкозы в венозной и/или капиллярной крови в диапазоне от 5,6 ммоль/л до 6,1 ммоль/л определяли как нарушенную гликемию натощак. Повышение уровня глюкозы в венозной крови через 2 часа после стандартной нагрузки более 6,7 ммоль/л, но менее 10,0 ммоль/л, или капиллярной крови 7,8–11,0 ммоль/л оценивали нарушенной толерантностью к глюкозе. Уровень гликемии в венозной крови натощак более 7,0 ммоль/л считали предварительным диагнозом манифестного СД, который подтверждали повторными исследованиями. Сахарный диабет типа 2 диагностировали на основании нескольких факторов, но основным считали начало заболевания в возрасте старше 40 лет.

Определяли иммунореактивный инсулин (ИРИ) с помощью тест-системы “Immulite” (США). Гиперинсулинемия натощак констатировалась при уровне ИРИ выше 18 мкМЕ/мл.

Рассчитывали индекс инсулинорезистентности Homeostasis Model Assessment (НОМА-IR) – метод оценки чувствительности к инсулину и его секреции. Чем выше значения НОМА-IR, тем ниже чувствительность к инсулину и выше инсулинорезистентность (ИР). Расчёт проводится по формуле:

$$(I_0 \times G_0) / 22,5, \quad (2.5.1.3)$$

где I_0 – базальное содержание ИРИ в крови (в мкМЕ/мл);

G_0 – базальное содержание глюкозы (в мг/дл).

Наличие ИР диагностируется при получении значений выше 2,27 [35].

Железо сыворотки крови определяли ортотолуидиновым методом по Г. Баркану и Б. Уолкеру. Дополнительно у части больных для более углублённого

обследования, в зависимости от характера полученных первоначально клинико-лабораторных данных, определяли ферритин, железосвязывающую способность сыворотки крови по В. Т. Каравай, рассчитывали коэффициент насыщения трансферрина железом.

2.5.2 Исследование показателей порфиринового обмена

Для определения порфиринового обмена у пациентов, включенных в исследования, определяли фракции порфиринов и их предшественников по стандартным методикам. Наиболее информативным является определение экскреторного профиля показателей порфиринового обмена, в ходе которого выявляется больший спектр расстройств [13].

На первом этапе проводились исследования мочи на наличие избытка предшественников: δ -аминолевулиновой кислоты (δ -АЛК) и порфобилиногена (ПБГ), их определяли методом хроматографии-спектрофотометрии с помощью тест-набора «BioSystems» (Испания). Исследуемая биосубстанция (моча) последовательно проходит через две колонки, содержащие ионообменные смолы. Первая задерживает ПБГ, вторая – АЛК, а затем определяется их уровень с реактивом Эрлиха. Этот тест всегда положительный при острых приступах порфирий, результаты теста всегда должны быть подтверждены количественным определением ПБГ и АЛК.

Количественный расчёт осуществляется по спектрофотометрическому измерению оптической плотности на спектрофотометре «APEL PD-303UV» (Япония).

Расчёт АЛК проводили по формуле:

$$\{[A_{\text{образец}}(\text{АЛК}) \div A_{\text{стандарт}}] \times 2 \times 1,25\} \times K = \text{ммоль / л АЛК} \quad (2.5.2.1)$$

Расчёт ПБГ проводили по формуле:

$$\{ [A_{\text{образец}} (\text{ПБГ}) \div A_{\text{стандарт}}] \times 2,92 \} \times K = \text{ммоль} / \text{л ПБГ} \quad (2.5.2.2)$$

где 1,25 и 2,92 – константы для АЛК и ПБГ (соответственно);

K – коэффициент пересчёта в систему СИ (для АЛК – 76,3, ПБГ – 44,2).

На следующем этапе определяли общие порфирины (ОП) и порфирины по фракциям в моче – уропорфирин (УП) и копропорфирин (КП) хроматографическим-спектрофотометрическим методом с помощью тест-набора «BioSystems» (Испания).

Количественный расчёт проводили по спектрофотометрическому измерению оптической плотности на спектрофотометре «APEL PD-303UV» (Япония) с использованием корреляционного коэффициента Алена:

$$\Delta A = 2 \times A_{400-407} - (A_{380} + A_{430}) \quad (2.5.2.3)$$

Расчёт УП проводили по формуле:

$$[\Delta A \times 4266 \times \text{суточный объём мочи (л)}] \times K = \text{УП}_{\text{ммоль}} / \text{сут} \quad (2.5.2.4)$$

Расчёт ОП проводили по формуле:

$$[\Delta A \times 3857 \times \text{суточный объём мочи (л)}] \times K = \text{ОП}_{\text{ммоль}} / \text{сут} \quad (2.5.2.5)$$

Расчёт КП проводили по формуле:

$$(\text{ОП}_{\text{мкг}} / \text{сут} - \text{УП}_{\text{мкг}} / \text{сут}) \times K = \text{КП}_{\text{ммоль}} / \text{сут} \quad (2.5.2.6)$$

где ΔA – корреляционный коэффициент Алена;

4266 и 3857 – константы для УП и ОП (соответственно);

K – коэффициент пересчёта в систему СИ (для УП – 1,53; КП – 1,2, ОП – 1,43).

Исследование предшественников порфиринов в моче, фракций УП и КП проводили у всех наблюдаемых больных с НАЖБП.

Опубликованные в литературе сведения относительно нормального содержания УП в моче более единообразны. Суточная экскреция с мочой этой фракции, по данным большинства авторов, обычно не превышает 36–48 нмоль/сут., что же касается суточной экскреции с мочой КП, то результаты определения этого показателя отличаются большой вариабельностью [44; 176].

Для оценки состояния порфиринового обмена у 40 практически здоровых лиц определяли предшественники порфиринов (АЛК и ПБГ), а также фракции порфиринов (УП и КП). Данная группа формировалась из доноров отделения переливания крови (зав. отд. Анчимова Л. Н.) ГБУЗ НСО ГКБ № 1 г. Новосибирск. Среди них мужчин было 22, женщин – 18 человек в возрасте от 18 до 56 лет, средний возраст ($42,3 \pm 2,8$) года. Все обследованные были лицами европейской расы. У обследованных контрольной группы патологии печени обнаружено не было. В личном и семейном анамнезе сведения об остром и хроническом гепатите отсутствовали, что подтверждалось отсутствием в сыворотке крови маркеров вирусного гепатита. При изучении профессионального анамнеза исключён непосредственный контакт на производстве с рядом веществ (фенолы, свинец, ртуть и др.), отсутствовали указания на прием лекарственных препаратов, обладающих гепатотоксическим и порфириногенным действием.

У 34 человек проведено эндоскопическое исследование и ультразвуковое сканирование органов брюшной полости. У всех обследованных контрольной группы отсутствовали заболевания органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, крови и почек, исключена эндокринная патология и болезни обмена веществ. В контрольной группе не было лиц с избыточной массой тела и ожирением (окружность талии у мужчин менее 94 см, у женщин менее 80 см, индекс массы тела менее 25 кг/м^2). Не было лиц, злоупотребляющих алкоголем,

что подтверждалось при клиническом и биохимическом обследовании. Результаты представлены в таблице 2.5.2.1.

Таблица 2.5.2.1 – Нормальное содержание предшественников и фракций порфиринов в моче в норме

Фракции порфиринов	Число обследованных			Содержание порфиринов			Пределы колебаний
	всего	мужчины	женщины	В целом по группе	мужчины	женщины	
АЛК, нмоль/сут	40	22	18	267,4 ± 11,7	254,2 ± 15,7	280,7 ± 19,7	101,5 – 358,6
ПБГ, нмоль/сут	40	22	18	18,5 ± 3,2	19,8 ± 2,7	17,3 ± 2,7	2,5 – 44,2
УП, нмоль/сут	40	22	18	14 ± 2,8	13 ± 2,9	14 ± 2,7	0 – 45
КП, нмоль/сут	40	22	18	55,4 ± 5,1	57 ± 5,7	51 ± 4,3	12 – 133
ОС, нмоль/сут	40	22	18	68 ± 4,7	70 ± 4,6	63 ± 5,1	26 – 161
Примечания: 1. АЛК – аминолевулиновая кислота; 2. ПБГ – порфобилиноген; 3. УП – уропорфирин; 4. КП – копропорфирин; 5. ОС – общее содержание.							

2.6 Методики клинико-молекулярного исследования

Генотипирование выполняли в лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАН (зав. лаб. – в. н. с., д. м. н. Максимов В. Н.).

2.6.1 Подготовка препаратов ДНК

Экстракция ДНК из крови проводилась методом фенол-хлороформной экстракции [34]. Депротеинизацию проводили последовательно водонасыщенным фенолом, смесью фенол-хлороформ (1:1) и хлороформом. ДНК осаждали добавлением раствора NH_4Ac до 2,5 М и 2,5 V этанола. Осадок, полученный центрифугированием на микроцентрифуге «Eppendorf» в течение 10 минут, промывали 70 % этанолом и растворяли в воде до концентрации ДНК 0,5мкг/мкл.

2.6.2 Генотипирование полиморфизма кодирующей части гена HFE аллелей C282Y и H63D

Детекцию полиморфизма rs1799945 (H63D) проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим расщеплением ПЦР продукта эндонуклеазой рестрикции Ksp22I. Структура праймеров:

- прямой 5-TGGTCTTTCSTTGTTTGAAGC-3;
- обратный 5-TCCATAATAGTCCAGAAGTCAACAG-3.

Смесь для ПЦР объемом 25 мкл включала: 100 ng ДНК; 1 × PCR буфер; 0,2 мол/л каждого праймера; 0,2 ммол/л каждого dNTP; 1,5 ммол/л MgCl_2 и 1 ед. Tag полимеразы. Амплификацию проводили в следующем температурном режиме: 95°C/30 сек, 60°C/30 сек, 72°C/30 сек – 35 циклов. Рестрикцию ПЦР-продукта длиной 195 пн осуществляли 10 ед. рестриктазы Ksp22I инкубацией при 37°C в течение 16 часов. Продукт разрезается рестриктазой при наличии замены на два фрагмента 137 и 58 пн. Детекцию продуктов амплификации и рестрикции проводили методом электрофореза в 4 % полиакриламидном геле с последующим окрашиванием Et-Br.

2.7 Методы математической обработки полученных данных

Полученные при обследовании больных клинико-статистические данные и результаты унифицированных и специальных лабораторных исследований подвергали математической обработке. При выполнении этого раздела работы использовали классические формулы математической статистики, используя рекомендации В. И. Юнкерова и С. Г. Григорьева (2005), О. Ю. Реброва (2006).

Результаты лабораторных исследований обрабатывали методом вариационной статистики при помощи прикладных программ Microsoft Office Excel 2010 и пакета статистических программ Statistica v.6,0 с расчётом средней арифметической (M), среднего квадратического отклонения (δ), средней ошибки (m), t – критерия Стьюдента для независимых выборок корреляционного анализа. Достоверность различий (p) устанавливали по таблице Стьюдента с учётом числа наблюдений. Различия между средними величинами изучаемых биохимических и клинических признаков в абсолютном или процентном исчислении считали достоверными при ($p < 0,05$).

Достоверность клинических данных оценивались по качественным изменениям признаков в процентном исчислении.

Средняя ошибка для каждой группы признаков вычислялась по формуле:

$$m = \pm \sqrt{\frac{p \times (100 - p)}{n}} \quad \text{или} \quad m = \pm \sqrt{\frac{p \times (100 - p)}{n - 1}} \quad (2.7.1)$$

(при числе наблюдений до 30),

где p – величина показателя в процентах (%);

n – число наблюдений.

Для определения тесноты связи между измеряемыми двумя переменными при небольшом числе наблюдений сравниваемых пар признаков использовали непараметрический коэффициент связи – коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s), рассчитывали по формуле:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d^2}{n^3 - n} \quad (2.7.2)$$

где d – разность рангов для каждого объекта выборки.

Коэффициент ранговой корреляции Спирмана используют, когда связь нелинейная, и не только для количественных, но и для порядковых признаков. При положительной (прямой) связи, когда изменение одного какого-либо явления идет в том же направлении, что и другого, коэффициент корреляции может принимать любое значение в пределах (0 ± 1) . В случае отрицательной (обратной) связи, когда изменение одного из изучаемых явлений сопровождается изменением другого в обратном направлении, коэффициент корреляции выражается отрицательным числом в пределах от 0 до минус 1. Степень тесноты связи считали при r до 0,30 слабой, от 0,31 до 0,50 – умеренной, от 0,51 до 0,70 – заметной и от 0,71 до 1,0 – высокой.

Достоверность коэффициента корреляции оценивали по t – критерию Стьюдента, который рассчитывали по формуле:

$$t = 1 - \frac{|r_{xy}|}{m_r} \quad (2.7.3)$$

где m_r – есть средняя квадратическая ошибка коэффициента корреляции, которая определяется по формуле:

$$m_r = \sqrt{\frac{1 - r_{xy}^2}{n - 2}} \quad (2.7.4)$$

Дополнительно для установления корреляционных взаимоотношений между клиническими и биохимическими признаками по их абсолютным значениям проводили линейный корреляционный анализ, используя критерий соответствия (метод χ -квадрат) или коэффициент линейной корреляции Пирсона. При установлении достоверности тесноты связей пользовались таблицей χ^2 , считая результаты достоверными, если ($p < 0,05$) при соответствующих степенях свободы (n^1).

2.8 Степень личного участия соискателя в выполнении работы

Лично автором проведен анализ литературных данных по теме диссертации, отбор и работа с пациентами, направления на исследования, набор материала, тестирование больных, составление электронной базы и статистический анализ данных полученных результатов исследования.

Автор выражает благодарность за помощь в работе профессору д.м.н. А. Д. Куимову, в.н.с. д.м.н. В. Н. Максимову, врачу лабораторной диагностики Л. Я. Куприяновой

ГЛАВА 3 МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА И ПОЛИМОРФИЗМ АЛЛЕЛЕЙ С282У И Н63D ГЕНА НFE ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

3.1 Частота выявления полиморфизма аллелей С282У и Н63D гена НFE у пациентов основной группы с неалкогольной жировой болезнью печени и у лиц группы сравнения (популяционной)

Целенаправленно молекулярно-генетическое обследование было проведено у 454 человек. Оценивали частоты генотипов и аллелей С282У и Н63D гена НFE у пациентов с НАЖБП и сравнивали с результатами, полученными при обследовании группы сравнения (популяционной). Необходимая численность групп наблюдения была определена согласно рекомендациям В. В. Двойрина и соавт. (1985).

В основную группу включено 112 пациентов с НАЖБП. Из них женщин 31 человек (27,7 %), мужчин – 81 человек (72,3 %). Возраст пациентов основной группы варьировал от 28 до 65 лет. Средний возраст в целом по группе составил ($50,5 \pm 2,1$) года. Женщины оказались достоверно старше мужчин ($p < 0,05$), их средний возраст достигал ($53,8 \pm 2,3$) года, тогда как у мужчин – ($47,2 \pm 1,8$) года.

В целом по группе обследованных пациентов с НАЖБП мутантные аллели 282У и 63D гена НFE зарегистрированы у 36 человек (32,1 %). Значительно чаще обнаруживалась аллель 63D гена НFE. Данная мутация выявлена у 30 человек (26,8 %). Мутация 282У гена НFE наблюдались только у 6 человек (5,4 %).

Мутантный аллель 63D гена НFE регистрировался практически с одинаковой частотой как у мужчин, так и у женщин (таблица 3.1.1). Напротив, аллель 282У гена НFE наблюдался в 5 раз реже (6 человек – 5,4 %) и преимущественно у мужчин (5 человек – 4,5 %).

Таблица 3.1.1 – Частота носительства аллелей 282Y и 63D гена HFE у обследованных пациентов

Показатели	В целом по группе		Мужчины		Женщины	
	n	%	n	%	n	%
Пациенты НАЖБП (основная группа) n = 112						
Частота аллелей 282Y и 63D в целом по группе	36	32,1	—	—	—	—
Частота аллеля 282Y гена HFE	6	5,4	5	4,5	1	0,9
Частота аллеля 63D гена HFE	30	26,8	14	12,5	16	14,3
Пациенты группы сравнения (популяционная) n = 342						
Частота аллелей 282Y и 63D в целом по группе	116	33,9	—	—	—	—
Частота аллеля 282Y гена HFE	20	5,8	10	2,9	10	2,9
Частота аллеля 63D гена HFE	96	28,1	55	16,1	41	12,0

Группу сравнения (популяционная) составили 342 человека. Мужчин было несколько больше, чем женщин, соответственно 181 (52,9 %) и 161 (47,1 %) человек. Средний возраст обследованных колебался в широких пределах: от 25 до 72 лет. Средний возраст лиц группы сравнения составил $(49,3 \pm 0,9)$ года и не отличался от соответствующего показателя пациентов основной группы. Женщины группы сравнения были достоверно ($p < 0,05$) старше мужчин. Средний возраст $(50,6 \pm 0,9)$ года и $(47,9 \pm 0,9)$ года соответственно.

Мутантные аллели 282Y и 63D гена HFE у лиц общей популяции выявлены у 116 человек (33,9 %). Заметно чаще (в 4,5 раза) как и в основной группе регистрировалась мутация по аллели H63D (см. таблицу 3.1.1). Изменения наблюдались как у мужчин, так и у женщин. Мутация C282Y встречалась с одинаковой частотой, тогда как H63D в 4,5 раза чаще обнаруживалась у мужчин.

3.2 Состояние липидного обмена у пациентов основной группы

Проведена сравнительная оценка состояния липидного обмена у больных НАЖБП. С этой целью пациенты были разделены на 2 группы. В 1-ю группу включили 36 человек, у которых в ходе молекулярно-генетического исследования были обнаружены аллели 282Y и 63D гена HFE, 2-ю группу составили 62 человека, у которых эти аллели отсутствовали. В данном разделе работы не использовали при статистических расчетах результаты 14 пациентов, так как на момент обследования они принимали статины. Уровень ОХС у них колебался от 3,9 до 4,9 ммоль/л, среднее значение $(4,17 \pm 0,12)$ ммоль/л; а ТГ – от 0,93 до 1,53 ммоль/л, среднее значение $(1,11 \pm 0,08)$ ммоль/л.

Уровень ОХС превышал нормативное значение 5,0 ммоль/л у всех пациентов в 1-й и 2-й группах. Не обнаружено достоверных различий ($p > 0,5$) при оценке гиперхолестеринемии у мужчин и женщин как внутри групп, так и между группами. Несколько выше значения ОХС отмечены у пациентов 1-й группы, однако достоверных различий не обнаружено ($p > 0,5$) (таблица 3.2.1). Необходимо подчеркнуть, что высокая гиперхолестеринемия (ОХС $> 6,0$ ммоль/л) в 1-й группе наблюдалась у 3 человек (8,3 %), во 2-й группе – у 4 человек (6,5 %).

Аналогичные закономерности выявлены при анализе значений ТГ как между группами, так и между мужчинами и женщинами. Достоверных различий не обнаружено ($p > 0,5$). Уровень ТГ существенно превышал целевое значение (более 1,7 ммоль/л) у всех пациентов (таблица 3.2.1).

Холестерин-липопротеиды высокой плотности только у 8 пациентов (22,2 %) 1-й группы соответствовал нормативному значению – более 1,15 ммоль/л, его колебания варьировали от 1,21 до 1,32 ммоль/л. У большей половины пациентов – 21 человек (77,8 %) его значения не превышали 0,75–1,04 ммоль/л. Напротив, у половины пациентов 2-й группы – 34 человека (54,8 %) значения ХС-ЛПВП были в пределах нормы – от 1,26 до 1,45 ммоль/л.

Таблица 3.2.1 – Состояние липидного обмена у пациентов НАЖБП

Показатели	В целом по группе		Мужчины		Женщины	
	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m
Больные 1-й группы (n = 29)						
Общий холестерин, ммоль/л	36	5,87 ± 0,6	19	5,86 ± 0,79	17	5,87 ± 0,39
Триглицериды, ммоль/л	36	2,75 ± 0,24	19	3,49 ± 0,62	17	2,01 ± 0,32
ХС-ЛПВП, ммоль/л	36	1,01 ± 0,06*	19	0,93 ± 0,07*	17	1,12 ± 0,08*
ХС-ЛПНП, ммоль/л	36	3,52 ± 0,22	19	4,25 ± 0,30	17	3,13 ± 0,26
ХС-ЛПОНП, ммоль/л	36	0,47 ± 0,09	19	0,55 ± 0,14	17	0,36 ± 0,05*
Индекс атерогенности	36	4,24 ± 0,39	19	4,11 ± 0,29	17	4,33 ± 0,35
Больные 2-й группы (n = 61)						
Общий холестерин, ммоль/л	62	5,46 ± 0,19	48	5,26 ± 0,21	14	5,50 ± 0,23
Триглицериды, ммоль/л	62	2,68 ± 0,21	48	2,73 ± 0,29	14	2,37 ± 0,36
ХС-ЛПВП, ммоль/л	62	1,31 ± 0,10*	48	1,29 ± 0,11*	14	1,38 ± 0,10*
ХС-ЛПНП, ммоль/л	62	2,84 ± 0,29	48	3,51 ± 0,31	14	2,31 ± 0,32
ХС-ЛПОНП, ммоль/л	62	0,62 ± 0,08	48	0,64 ± 0,08	14	0,61 ± 0,07*
Индекс атерогенности	62	3,59 ± 0,37	48	3,67 ± 0,38	14	3,46 ± 0,39
Примечания:						
1. * – различия статистически достоверны (p < 0,01–0,05) в сравнении между группами;						
2. ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности;						
3. ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности,						
4. ХС-ЛПОНП - холестерин липопротеидов очень низкой плотности.						

Холестерин-липопротеиды низкой плотности, холестерин-липопротеиды высокой плотности и индекс атерогенности ИА у всех пациентов не соответствовали целевым значениям. Однако достоверных различий между

группами, мужчинами и женщинами не обнаружено ($p > 0,5$).

Сравнительный анализ показателей липидного обмена у больных 1-й группы в зависимости от варианта полиморфизма гена HFE показал следующие результаты (таблица 3.2.2).

Таблица 3.2.2 – Состояние липидного обмена у пациентов НАЖБП в зависимости от варианта мутации гена HFE

Показатели	Мутация по аллели 282Y гена HFE (n = 6)	Мутация по аллели 63D гена HFE (n = 30)
Общий холестерин, ммоль/л	5,48 ± 0,39	5,45 ± 0,21
Триглицериды, ммоль/л	1,95 ± 0,26*	2,97 ± 0,38*
ХС-ЛПВП, ммоль/л	1,01 ± 0,03	1,00 ± 0,06
ХС-ЛПНП, ммоль/л	3,62 ± 0,49	3,56 ± 0,25
ХС-ЛПОНП, ммоль/л	0,39 ± 0,12	0,49 ± 0,11
Индекс атерогенности	4,06 ± 0,61	4,28 ± 0,45
Примечание: * – различия статистически достоверны ($p < 0,05$) в сравнении между группами.		

Мутация С282Y гена HFE обнаружена у 6 человек, преимущественно у мужчин, мутация Н63D – у 30 человек. Показатели липидного спектра (ОХС, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП, ИА) существенно отклонялись от нормативных значений. Исключением являлись результаты значений ТГ. Уровень ТГ значимо превышал целевой уровень, но у пациентов с полиморфизмом аллели Н63D его уровень был достоверно выше ($p < 0,05$) значения, которое было зафиксировано у носителей аллеля 282Y (см. таблицу 3.2.2).

3. 3 Состояние углеводного обмена у пациентов основной группы

Сравнительная оценка состояния углеводного обмена была проведена у 112 пациентов НАЖБП. По результатам молекулярно-генетического исследования

больные были разделены на 2 группы. Первую группу составили 36 пациентов, у которых были обнаружены аллели 282Y и 63D гена HFE. Во 2-ю группу включено 76 пациентов, у которых данные нарушения не выявлены.

Патологические отклонения в углеводном обмене в целом по группе обследованных пациентов с НАЖБП зарегистрированы у 73 человек (65,2 %). Согласно современной этиологической классификации нарушений гликемии [14] у 10 пациентов отклонения в углеводном обмене соответствовали нарушенной гликемии натощак (прандиальная гликемия), у 4 пациентов – нарушенной толерантности к глюкозе и у 59 человек – СД типа 2.

Впервые выявленные нарушения углеводного обмена (прандиальная гипергликемия и нарушение толерантности к глюкозе и СД типа 2) диагностированы у 24 пациентов и с одинаковой частотой регистрировались как в 1-й группе – 8 человек (22,2 %), так и во 2-й группе – 16 человек (21,1 %).

Прандиальная гипергликемия характеризовалась повышением уровня глюкозы капиллярной крови от 5,6 до 6,0 ммоль/л и подтверждалась повторными исследованиями. При нарушении толерантности к глюкозе у больных регистрировались повышенное содержание сахара крови в капиллярной крови натощак до 5,7–6,0 ммоль/л и замедленное возвращение к исходному уровню через 2 часа после стандартной нагрузки – 75 г глюкозы (содержание глюкозы капиллярной крови оставалось на уровне 7,4–9,9 ммоль/л). Сахарный диабет типа 2 характеризовался повышением уровня глюкозы капиллярной крови натощак до 7,1–13,5 ммоль/л. Частота регистрации расстройств углеводного обмена и распределение категорий гипергликемий у обследованных больных с НАЖБП представлены в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1 – Состояние углеводного обмена у пациентов с НАЖБП

Группы обследованных	Всего больных	Состояние углеводного обмена							
		Нормальный уровень глюкозы		Прандиальная гипергликемия		Нарушенная толерантность глюкозе		Сахарный диабет типа 2	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Пациенты с аллелями 282Y и 63D гена HFE									
В целом по группе обследованных	36	14	38,9	4	11,1	1	2,8	17	47,2
С аллелем 282Y	6	1	16,7	2	33,3	—	—	3	50,0
С аллелем 63D	30	13	43,3	2	6,7	1	3,3	14	46,7
Мужчины	19	6	31,6	4	21,0	—	—	9	47,4
Женщины	17	8	47,0	—	—	1	6,0	8	47,0
Пациенты без аллелей 282Y и 63D гена HFE									
В целом по группе обследованных	76	25	32,9	6	7,9	3	3,9	42	55,3
Мужчины	62	19	30,6	6	9,7	2	3,2	35	56,5
Женщины	14	6	42,9	—	—	1	7,1	7	50,0

Различные варианты расстройств углеводного обмена в обеих группах регистрировались практически с одинаковой частотой, соответственно: 1-я группа – 22 человека (61,1 %) и 2-я группа – 51 человек (67,1 %). Вместе с тем, у пациентов 1-й группы несколько чаще отсутствовали расстройства углеводного обмена и реже регистрировались ранние нарушения углеводного обмена в виде прандиальной гипергликемии (см. таблицу 3.3.1). Напротив, у пациентов 2-й группы чаще наблюдались нарушение толерантности к глюкозе и СД типа 2. В обеих группах нарушения в обмене углеводов заметно чаще обнаруживались у

мужчин. В 1-й группе – у 13 мужчин (36,1 %) и 9 женщин (25,0 %) соответственно. У пациентов 2-й группы – 43 (56,6 %) и 8 (10,5 %) соответственно. У обследованных больных заметно чаще регистрировался СД типа 2, в сравнении с ранними нарушениями углеводного обмена (прандиальная гипергликемия и нарушение толерантности к глюкозе). В 1-й группе – 17 человек (47,2 %) и 5 человек (13,9 %), во 2-й группе – 42 (55,3 %) и 9 (11,8 %) соответственно.

При сравнении частоты регистрации нарушений углеводного обмена у пациентов с аллелем 282Y гена HFE расстройства углеводного обмена зарегистрированы в 83,3 % случаев (5 человек), тогда как у пациентов с аллелем 63D гена HFE – только в 56,7 % случаев (17 человек).

В ходе обследования у 43 пациентов обнаружена ИР. Индекс НОМА-IR у них колебался от 2,49 до 18,6, в среднем $(6,45 \pm 1,4)$. В группе больных (47 человек) с нормальными гомозиготными генотипами С282С и Н63Н ИР выявлена у 30 (63,8 %) больных. Значения индекса НОМА-IR были в пределах от 2,49 до 8,54, в среднем $(5,62 \pm 1,4)$. В группе пациентов с заменами С282Y и Н63D (18 человек) ИР зарегистрирована у 16 (88,9 %) больных. Индекс НОМА-IR у них колебался в пределах 3,59–13,4; в среднем $(6,41 \pm 1,3)$. Частота регистрации ИР у этой категории больных оказалась достоверно выше ($p < 0,05$). Инсулинорезистентность в этой группе больных выявлена у всех пациентов с нарушенным обменом порфиринов – 13 человек (72,2 %), что также было достоверно значимо ($p < 0,05$) в сравнении с пациентами с нормальными гомозиготными генотипами.

При проведении корреляционного анализа нарушений углеводного обмена наиболее значимые и достоверные корреляционные отношения ($p < 0,001$) обнаружены между предшественником порфиринов δ -АЛК и расчётным показателем углеводного обмена индексом НОМА-IR ($r_s + 0,676$) и ($r_s + 0,618$) соответственно. При дополнительной статистической оценке значимости полученных данных по χ^2 – критерию Пирсона было установлено, что СД достоверно чаще регистрировался у больных с повышенной экскрецией

предшественников порфиринов δ -АЛК и ПБГ ($\chi^2 = 8,35$) при ($n' = 3$), ($p < 0,05$).

3.4 Состояние порфиринового обмена у пациентов основной группы

Состояние порфиринового обмена изучено у 112 пациентов НАЖБП. При дифференцированной оценке показателей порфиринового обмена только у 35 человек (31,3 %) содержание всех фракций порфиринов в моче (УП от следовых концентраций до 40,1 нмоль/сут, КП от 8,2 до 115,9 нмоль/сут), их соотношение (КП/УП от 1,1 до 6,7), а также δ -АЛК (101,5–366,2 нмоль/сут) и ПБГ (2,5–44,2 нмоль/сут) соответствовали контрольным значениям. У 77 (68,8 %) пациентов НАЖБП выявлены нарушения порфиринового обмена. Данные расстройства были весьма вариабельны, что не позволяло их классифицировать как известные варианты порфирий. В дальнейшем мы будем использовать термин «неклассифицированные расстройства порфиринового обмена». У больных НАЖБП верифицировали повышение δ -АЛК и ПБГ, изменение соотношения фракций УП и КП, изолированное повышение фракции КП – копропорфирурия (КП-урия), изолированное повышение фракции УП – урокопропорфирурия (УП-урия), повышение фракций УП и КП – урокопропорфирурия, сочетанные нарушения (таблица 3.4.1). Все эти биохимические варианты нарушений порфиринового обмена были зарегистрированы у 48 пациентов (63,2 %) без мутаций С282У и Н63D гена HFE. У больных с мутациями С282У и Н63D гена HFE аналогичные нарушения обнаружены у 29 человек (80,6 %), что оказалось достоверно чаще ($p < 0,05$).

Таблица 3.4.1 – Состояние порфиринового обмена у пациентов с НАЖБП

Варианты порфиринового обмена	Группы обследованных					
	В целом по группе (n=112)		Пациенты с мутациями С282У и Н63D гена HFE (n = 36)		Пациенты без мутаций С282У и Н63D гена HFE (n = 76)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Нормальный обмена порфиринов	35	31,3	7	19,4	28	36,8
Повышение δ -АЛК и ПБГ	24	21,4	10	27,8	14	18,4
Повышение δ -АЛК и ПБГ с изменением соотношения фракций КП/УП	17	15,2	9	25,0	8	10,5
Повышение δ -АЛК и ПБГ в сочетании с копропорфирурией	2	1,8	—	—	2	2,6
Повышение δ -АЛК и ПБГ в сочетании с урокопропорфирурией	16	14,3	3	8,3	13	17,1
Изменение соотношений фракций КП/УП	3	2,6	1	2,8	2	2,6
Копропорфирурия	7	6,3	1	2,8	6	8,0
Уропорфирурия	3	2,6	3	8,3	—	—
Урокопропорфирурия	5	4,5	2	5,6	3	4,0
Всего	112	100,0	36	100,0	76	100,0

Обнаруженные нарушения порфиринового обмена имели следующие характеристики:

1) Повышение предшественников порфиринов характеризовалось высокой экскрецией δ -АЛК (от 412,0 до 1083,5 нмоль/сут) и ПБГ (от 48,6 до 119,3 нмоль/сут). Экскреция фракций УП (от следовых концентраций до 39,8 нмоль/сут) и КП (от 13,7 до 108,7 нмоль/сут) не превышала контрольных значений (рисунок 3.4.1). Данный тип биохимических расстройств

порфиринового обмена зарегистрирован у 59 человек (52,7 %). У 24 пациентов (21,4 %) высокая экскреция δ -АЛК и ПБГ наблюдалась изолированно, а у 35 больных (31,3 %) сочеталась с другими расстройствами порфиринового обмена (см. таблицу 3.4.1): изменение соотношений фракций УП и КП (17 человек, 15,2 %), урокопропорфирурией (16 человек, 14,3 %), КП-урией (2 человека, 1,8 %).

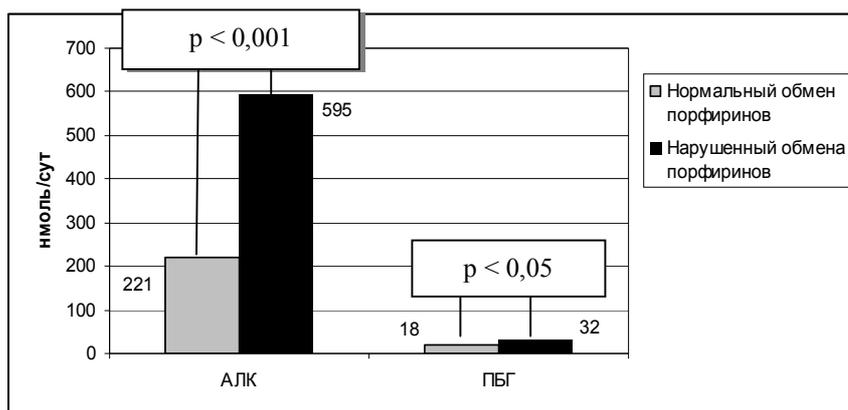


Рисунок 3.4.1 – Повышение δ -АЛК и ПБГ у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой

2) Изменение соотношения фракций УП и КП. Для этого типа биохимических расстройств порфиринового обмена характерно заметное повышение экскреции фракции УП (от 48,6 до 94,2 нмоль/сут) при нормальной и/или сниженной экскреции фракции КП (38,8–94,0 нмоль/сут). Общее содержание порфиринов в моче остается нормальным, но изменяется нормальное соотношение фракций порфирий УП и КП. В результате коэффициент соотношения КП/УП становится менее единицы при норме 1,6–5,1 (рисунок 3.4.2). Зарегистрировано у 20 пациентов (17,8 %). У большинства больных – 17 человек (15,2 %) сочетался с высокой экскрецией δ -АЛК и ПБГ и только у трех человек (2,6 %) наблюдался изолированно (см. таблицу 3.4.1).

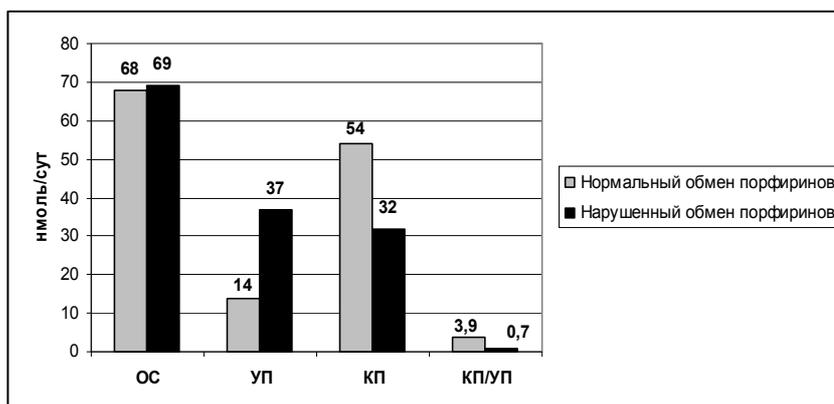


Рисунок 3.4.2 – Нарушение соотношений фракций порфиринов у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой

3) Копропорфирурия была зарегистрирована у 9 пациентов (8,1%). У двух человек (1,8 %) сочетался с высокой экскрецией δ -АЛК и ПБГ, а у семи (6,3 %) наблюдалась изолированно (см. таблицу 3.4.1). Для этого варианта нарушений порфиринового обмена характерна высокая экскреция фракции КП. Общая экскреция порфиринов с мочой в 3 раза превышает нормальные значения. Доминирующей фракцией до 95 % становится фракция КП (от 130,1 до 383,2 нмоль/сут), что достоверно ($p < 0,001$) превышало показатели в контрольной группе (рисунок 3.4.3).

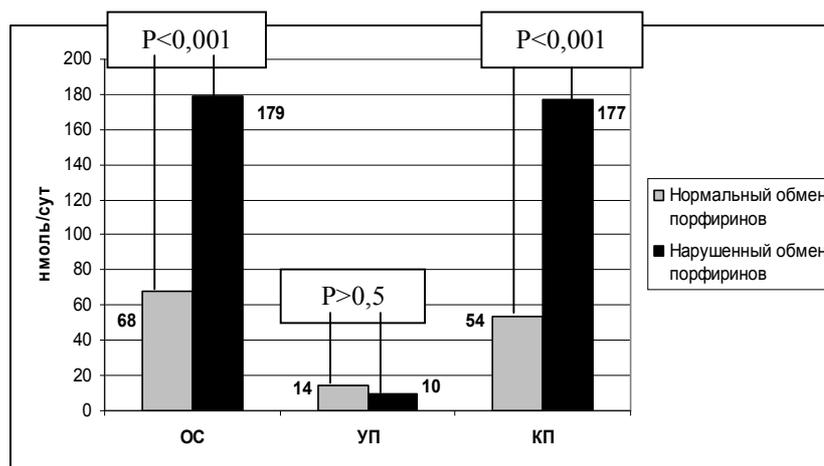


Рисунок 3.4.3 – Соотношение фракций порфиринов при биохимическом синдроме копропорфирурии у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой

4) Уропорфирурия характеризуется исключительно высокой экскрецией фракции УП (от 52,0 до 137,7 нмоль/сут). Сочетаний с другими вариантами нарушений порфиринового обмена не зарегистрировано. Экскреция фракции КП в пределах контрольных значений (от 41,0 до 68,4 нмоль/сут). Синдром констатирован у троих пациентов (2,6 %) (см. таблицу 3.4.1, рисунок 3.4.4).

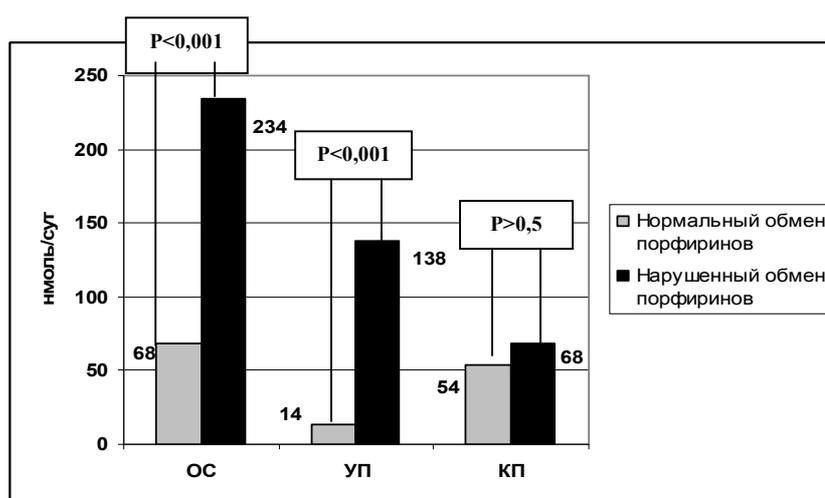


Рисунок 3.4.4 – Соотношение фракций порфиринов при УП-урии у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой

5) Урокопропорфиринария зарегистрирована у 21 пациента (18,8 %). У 16 пациентов (14,3 %) сочетался с высокой экскрецией δ -АЛК и ПБГ, а у 5 человек (5,4 %) протекал изолированно. На этом этапе развития нарушений порфиринового обмена появляются специфические для манифестной поздней кожной порфирии биохимические признаки. В моче обязательно до патологических значений повышаются фракции УП и КП, прослеживается тенденция к доминированию этих фракций, но не всегда и не у всех больных (рисунок 3.4.5).

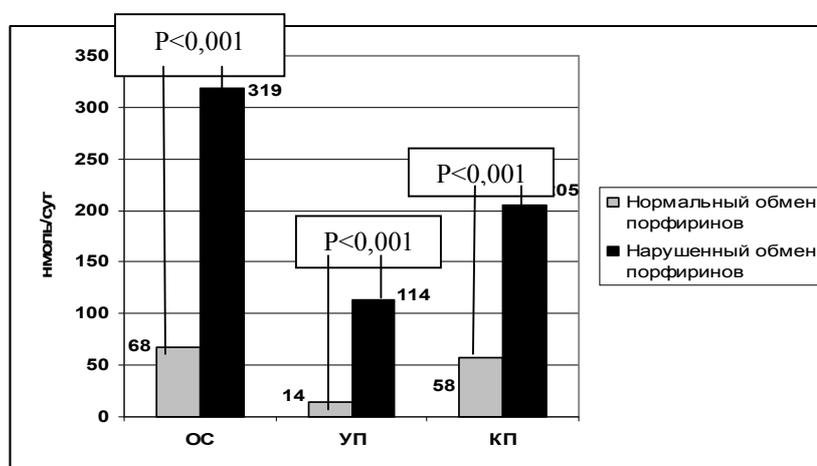


Рисунок 3.4.5 – Соотношение фракций порфиринов при биохимическом синдроме ХЛПП у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой

Общее содержание порфиринов в моче может достигать 1000 нмоль/сут. Этот биохимический синдром зарегистрирован у 21 (18,8 %) пациента и характеризовался повышением до патологических значений всей фракции порфиринов: экскреция УП достигала (108,9–1048,4 нмоль/сут), КП – 214,0–423,6 нмоль/сут. В отличие от манифестной ПКП при этом биохимическом синдроме отсутствовали характерные для ПКП симптомы фотосенсибилизации.

Биохимические характеристики различных вариантов состояния порфиринового обмена в сравнительном плане представлены в таблице 3.4.2.

Таблица 3.4.2 – Экскреция порфиринов с мочой у обследованных больных НАЖБП ($M \pm m$)

Варианты нарушений порфиринового обмена	Показатели порфиринового обмена					
	УП, нмоль/сут	КП, нмоль/сут	ОС, нмоль/сут	КП/УП	АЛК, нмоль/сут	ПБГ, нмоль/сут
Контрольная группа (n = 40)	14,0 ± 2,8	55,4 ± 5,1	68,0 ± 4,7	3,8 ± 1,8	267,4 ± 11,7	18,5 ± 3,2
Нормальный обмен порфиринов (n = 35)	10,1 ± 2,9	53,7 ± 7,1	63,8 ± 9,2	2,3 ± 0,6	247,6 ± 19,0	18,3 ± 3,1
Повышение δ-АЛК и ПБК (n = 24)	18,6 ± 4,4	58,1 ± 6,8	76,7 ± 10,5	2,4 ± 0,5	594,6 ± 56,9*	32,2 ± 2,5*
Изменение соотношения фракций УП и КП (n = 3)	51,1 ± 4,8*	36,5 ± 9,1	87,6 ± 8,7*	0,74 ± 0,04	274,7 ± 17,3	17,6 ± 3,8
КП-урия (n = 7)	10,1 ± 2,5	142,7 ± 6,6*	152,8 ± 9,9*	4,7 ± 1,3	283,6 ± 26,5	18,9 ± 2,9
УП-урия (n = 3)	58,3 ± 4,5*	76,9 ± 7,6	135,2 ± 6,1*	1,7 ± 0,9	201,4 ± 46,7	22,8 ± 2,7
Урокопропорфирурия (n = 5)	84,2 ± 13,2*	301,6 ± 18,3*	385,8 ± 31,1*	3,6 ± 0,5	261,3 ± 28,6	23,0 ± 3,2
Комбинированные нарушения						
Повышение δ-АЛК и ПБГ в сочетании с изм. соотношения фракций УП и КП (n=17)	48,8 ± 4,9*	37,5 ± 2,7*	80,7 ± 7,6	0,67 ± 0,05	522,2 ± 21,3*	38,1 ± 4,2*
Повышение δ-АЛК и ПБГ в сочетании с урокопропорфирурией (n=16)	114,1 ± 8,7*	204,7 ± 25,2*	318,8 ± 61,8*	1,8 ± 0,1	520,1 ± 55,8*	89,9 ± 14,6*

Продолжение таблицы 3.4.2

Варианты нарушений порфиринового обмена		Показатели порфиринового обмена				
		УП, нмоль/сут	КП, нмоль/сут	ОС, нмоль/сут	КП/УП	АЛК, нмоль/сут
Повышение δ -АЛК и ПБГ в сочетании с КП-урией (n=2)	12,1-22,5	383,2-217,4	239-395,3	9,7-31,7	495,9-648,6	30,1-35,4
Примечания: 1. δ -АЛК – аминолевулиновая кислота; 2. ПБГ – порфобилиноген; 3. УП – уропорфирин, УП-урия – уропорфирурия 4. КП – копропорфирин, КП-урия – копропорфирурия; 6. * – различия статистически достоверны (0,05–0,001) в сравнении с контролем.						

У 42 пациентов (54,5 %) нарушения соответствовали обозначенным биохимическим синдромам: повышение предшественников порфиринов – δ -АЛК и ПБГ, изменение соотношения фракций порфиринов УП и КП, КП-урия, УП-урия, урокопропорфирурия. Напротив, у 35 человек (45,5 %) расстройства порфиринового обмена имели комбинированный характер. Чаще регистрировались комбинации сочетания повышенной экскреции δ -АЛК и ПБГ с изменением соотношения фракций порфиринов УП и КП – 17 человек (22,1 %) и урокопропорфирурией – 16 человек (20,8 %) У двоих пациентов (2,6 %) высокая экскреция δ -АЛК и ПБГ сочеталась с КП-урией (табл. 3.4.3).

Таблица 3.4.3 – Сравнительная оценка показателей порфиринового у больных с наличием и отсутствием мутаций гена HFE (M \pm m)

Показатели порфиринового обмена	Контрольная группа (n = 40)	n	Больные с мутациями гена HFE	n	Больные без мутаций гена HFE
Экскреция δ -Аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, уропорфирина и копропорфирина при нормальном обмене порфиринов, нмоль/сут					
δ -Аминолевулиновая кислота, нмоль/сут	221,3 \pm 38,1	5	249,5 \pm 11,1	17	261,1 \pm 17,2
Порфобилиноген, нмоль/сут	17,6 \pm 4,4	5	23,0 \pm 4,4	17	16,8 \pm 2,7
Уропорфирин, нмоль/сут	13,8 \pm 2,9	5	11,3 \pm 3,1	17	13,9 \pm 2,0
Копропорфирин, нмоль/сут	54,1 \pm 5,1	5	38,1 \pm 7,2	17	40,2 \pm 9,3
Экскреция δ -Аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, уропорфирина и копропорфирина при нарушенном обмене порфиринов, нмоль/сут					
δ -Аминолевулиновая кислота, нмоль/сут	221,3 \pm 38,1	36	794,2 \pm 81,**	36	575,3 \pm 38,3*
Порфобилиноген, нмоль/сут	17,6 \pm 4,4	36	67,8 \pm 8,3**	36	47,3 \pm 2,1*
Уропорфирин, нмоль/сут	13,8 \pm 2,9	36	86,1 \pm 8,2**	36	68,1 \pm 4,8*
Копропорфирин, нмоль/сут	54,1 \pm 5,1	36	249,9 \pm 16,7**	36	109,1 \pm 5,6*

Продолжение таблицы 3.4.3

Показатели порфиринового обмена	Контрольная группа (n = 40)	n	Больные с мутациями гена HFE	n	Больные без мутаций гена HFE
Примечания: 1. различия статистически достоверны; 2. * – с контролем ($p < 0,001$); 3. ** – с контролем и между группами обследованных больных ($p < 0,02-0,05$).					

При сравнительной оценке состояния порфиринового обмена у пациентов с заменами С282У и Н63D гена HFE и у больных с нормальными гомозиготными генотипами С282У и Н63D характеризовались аналогичными вариантами расстройств, качественных различий не обнаружено (см. таблицу 3.4.2). Однако в количественном отношении степень выраженности нарушений оказалась достоверно ($p < 0,05-0,001$) выше у пациентов с аллелями 282У и 63D гена HFE (см. таблицу 3.4.3).

3.5 Состояние обмена железа у пациентов основной группы

Показатели обмена железа: железо сыворотки крови, общая железосвязывающая способность сыворотки, расчетный показатель коэффициент насыщения трансферрина железом и ферритин были определены у 70 больных НАЖБП. В целом по группе обследованных отклонения в обмене железа обнаружены у 15 больных (21,4 %).

У пациентов основной группы с мутациями по гену HFE (20 человек) средний уровень железа сыворотки крови достигал $(24,7 \pm 1,9)$ мкмоль/л и достоверно ($p < 0,001$) превышал контрольное значение $(16,1 \pm 1,0)$ мкмоль/л. Однако только у 7 из них (35,0 %) наблюдалось повышение коэффициента насыщения трансферрина железом $(48,1 \pm 5,5 \%)$, норма $(21,2 \pm 1,9 \%)$ ($p < 0,001$) и ферритина $(455,9 \pm 45,4)$ мкг/л, норма $(226,8 \pm 38,4)$ мкг/л ($p < 0,001$). По совокупности обнаруженных отклонений от нормативных значений у них был

констатирован синдром хронической перегрузки железом. У этих 7 больных нарушения в обмене железом ассоциировались с расстройствами в обмене порфиринов: у трех пациентов наблюдалось повышение δ -АЛК и ПБГ, у одного – УП-урия и у трех – урокопропорфирурия.

У пациентов основной группы без мутаций в гене HFE (50 человек) средний уровень железа сыворотки крови не превышал контрольных значений ($17,3 \pm 0,9$) мкмоль/л. Только у 8 пациентов (16,0 %) железо сыворотки крови повышалось до 29,1–40,1 мкмоль/л при норме до 28,3 мкмоль/л. У них же коэффициент насыщения трансферрина железом достигал 49,3–64,8 %, в среднем ($46,4 \pm 5,6$) % ($p < 0,001$) в сравнении с нормой. Однако, уровень ферритина у них оставался в пределах контрольных значений 99,0–272,0 мкг/л, в среднем ($190,4 \pm 40,9$) мкг/л ($p > 0,5$) в сравнении с нормой. Такой спектр отклонений в обмене показателей железа у пациентов с НАЖБП без мутаций в гене HFE не позволял констатировать наличие синдрома хронической перегрузки железом. Следует отметить, что расстройства в обмене порфиринов у пациентов этой группы с нарушениями в обмене железа наблюдались только у 6 из 8 пациентов: у троих – КП-урия и у троих – урокопропорфирурия.

3.6 Состояние функции печени у пациентов основной группы

Сравнительная оценка показателей функции печени проведена у 112 больных НАЖБП. Определяли значения общего, прямого и непрямого билирубина, показатели цитоза: АлАТ и АсАТ, активность ферментов ЩФ и ГГТП. Средние значения общего, прямого и непрямого билирубина в сравниваемых группах не имели достоверных различий ($p < 0,5$). Не зарегистрировано достоверных различий ($p < 0,5$) и в сравнении с контрольной группой (таблица 3.6.1). Однако, среднее значение общего и прямого билирубина оказалось несколько выше у пациентов 1-й группы с мутациями в гене HFE, так как только в данной группе у двоих пациентов были зарегистрированы повышенные значения общего билирубина (28,0 и 30,6 мкмоль/л, норма до

20,0 мкмоль/л) и прямого билирубина (6,9 и 7,5 мкмоль/л, норма до 3,0 мкмоль/л).

Таблица 3.6.1 – Показатели функции печени у больных с наличием и отсутствием мутаций гена HFE ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n = 40)	Больные с мутациями гена HFE (n = 36)	Больные без мутаций гена HFE (n = 76)
Билирубин общий, мкмоль/л	12,6 ± 1,6	13,06 ± 1,36	11,39 ± 0,74
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,5 ± 0,2	2,08 ± 0,70	0,76 ± 0,24
Билирубин не прямой, мкмоль/л	11,9 ± 1,4	11,43 ± 1,05	10,07 ± 0,57
АсАТ, мкмоль/л	0,30 ± 0,05	0,32 ± 0,04	0,33 ± 0,02
АлАТ, мкмоль/л	0,40 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,39 ± 0,05
Щелочная фосфатаза, U/l	175,2 ± 9,8	170,1 ± 13,3	167,3 ± 11,6
ГГТП, ед/л	31,3 ± 3,3	89,16 ± 10,29***	57,49 ± 10,89***
Примечание: – различия статистически достоверны – * с контрольной группой (p < 0,001–0,025); –** между группами (p < 0,05).			

Активность аминотрансфераз не отклонялась от нормативных значений в обеих группах обследованных. Однако активность АлАТ у пациентов с мутациями гена HFE оказалась несколько выше (см. таблицу 3.6.1). Активность ЩФ у пациентов в сравниваемых группах и контроле оставалась в рамках контрольных значений. Наиболее значимые отклонения от нормативных значений зарегистрированы при анализе ГГТП. Активность ГГТП у больных обеих групп была достоверно выше (p < 0,001–0,025) в сравнении с контролем. У пациентов 1-й группы с мутациями в гене HFE повышенные значения ГГТП (от 68,0 до 101,0 ед/мл при норме до 50,0 ед/мл) обнаружены у 7 человек (19,4 %), тогда как во 2-й группе у пациентов без мутаций гена HFE повышенный уровень ГГТП (от 51,1 до 68,8 ед/мл) наблюдался в 1,5 раза реже – у 11 человек (14,5 %). Вместе с

тем среднее значение данного показателя было достоверно ($p < 0,05$) выше у пациентов с мутациями гена HFE. При этом необходимо отметить, что расстройства углеводного обмена, которые могут способствовать и/или индуцировать повышение активности ГГТП несколько чаще наблюдались в группе пациентов без мутаций в гене HFE, соответственно 67,1 % и 61,1 % случаев (см. таблицу 3.3.1).

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящей работе анализируются и обобщаются результаты целенаправленного молекулярно-генетического обследования у 454 человек, в ходе которого оценивали частоту мутаций аллелей С282У и Н63D гена HFE у пациентов с НАЖБП и сравнивали с результатами, полученными при обследовании у лиц общей популяции.

При хронических заболеваниях печени молекулярно-генетическое исследование позволяет прогнозировать течение заболевания [31]. Наследственные механизмы формирования обнаружены и при НАЖБП [126; 138; 207].

Многочисленные исследования показали, что мутации гена HFE ассоциируются с расстройствами в обмене железа [49] и манифестными нарушениями порфиринового обмена, в частности с поздней кожной порфирией [91]. Вместе с тем расстройства в обмене железа и неспецифические нарушения в обмене порфиринов нередко обнаруживаются при НАЖБП [9; 13; 168].

Результаты проведённого клинического исследования позволили констатировать, что мутации С282У и Н63D гена HFE у пациентов с НАЖБП и у лиц общей популяции регистрируются с одинаковой частотой в 32,1 % и 33,9 % случаев соответственно. В обеих группах чаще регистрировалось носительство мутантного аллеля 63D в 26,8 % и 28,1 % случаев соответственно. Зарегистрированы различия по гендерному признаку. В частности, мутантный аллель 63D в основной группе несколько чаще регистрировался у женщин, тогда как в группе сравнения – у мужчин. Напротив, мутация С282У в группе сравнения обнаруживалась с одинаковой частотой у мужчин и женщин, а в основной группе – преимущественно у мужчин. Полученные результаты позволяют предположить, что наличие мутации гена HFE не является первопричиной и ведущим патогенетическим механизмом формирования НАЖБП, но может оказывать заметное влияние на обменные процессы.

Наиболее заметными обменными нарушениями, ассоциированными с

мутациями гена HFE, оказались расстройства обмена порфиринов, выявленные у 77 (68,8 %) больных НАЖБП. Нарушения оказались очень вариабельными. По результатам биохимических исследований выделено пять биохимических синдромов: повышение предшественников порфиринов (АЛК и ПБГ); изменение соотношения фракций порфиринов, при этом коэффициент соотношения фракций КП/УП становится меньше единицы; ВКПУ, при котором изолированно повышается только фракция КП; УП-урия – изолированно повышается только фракция УП, данный биохимический синдром верифицирован впервые; хроническая латентная поздняя порфирия (ХЛПП).

Эти биохимические синдромы наблюдались у 42 пациентов (54,5 %). Вместе с тем были обнаружены комбинированные нарушения порфиринового обмена – у 35 человек (45,5 %), которые характеризовались сочетанием биохимических синдромов. Чаще наблюдалось сочетание повышения предшественников порфиринов с изменением соотношения фракций и ХЛПП. Комбинированные нарушения также зарегистрированы впервые. Такая вариабельность нарушений может быть, с одной стороны, обусловлена дефектами разных ферментов, регулирующих обмен порфиринов, а с другой – прогрессирующим течением расстройств порфиринового обмена [44].

В норме многоэтапный метаболизм порфиринов контролируется сложной системой ферментов. Повышение активности фермента синтетазы АЛК ведёт к увеличению синтеза одного из метаболитов – АЛК. Как следствие активизируется фермент синтетаза ПБГ, что приводит к повышенному образованию другого метаболита – ПБГ. Аминолевулиновая кислота и ПБГ считаются предшественниками порфиринов, а количество АЛК, подвергшейся конденсации с образованием ПБГ, определяет количество конечного порфирина, так как эта реакция является необратимой. По принципу обратной связи происходит снижение активности декарбоксилазы уропорфириногена и индуцируется накопление избыточных количеств порфиринов, что нами было зарегистрировано в виде изолированного повышения экскреции фракции УП, изменением

соотношения фракций порфиринов с последующим формированием биохимических синдромов ВКПУ и ХЛПП [44].

Сравнительный анализ обнаруженных нарушений порфиринового обмена у больных с выявленными мутациями 282Y и 63D в гене HFE и без такового не позволил обнаружить принципиальных различий в качественных характеристиках. У пациентов регистрировались идентичные нарушения порфиринового обмена. Вместе с тем, у больных с имеющимися мутациями аллелей 282Y и 63D в гене HFE, частота регистрации нарушений в обмене порфиринов обнаруживалась в 80,6 % случаев и степень их выраженности была достоверно выше ($p < 0,05-0,001$).

Констатируемый при НАЖБП высокий процент нарушений порфиринового обмена даёт основание обсудить ряд взаимоотношений с другими обменными процессами. Авторы М. Писанец и П. Павлов [1983] у больных СД 2 типа выявили изменения в биосинтезе порфиринов на начальных его стадиях (на этапе превращения АЛК в ПБГ) и считают, что дисметаболизм порфиринов обусловлен при СД изменениями функции гепатоцитов, в митохондриальной системе которых осуществляются биосинтез порфиринов и гема. По мнению F. Sixel-Dietrich и F. Verspohl [1985] существенная роль в усилении синтетической активности предшественников порфиринов принадлежит гиперпродукции инсулина и формированию ИР. Эти изменения авторами были отмечены при острой перемежающей порфирии, диагностическими маркерами которой являются высокая активность АЛК и ПБГ.

Эти данные не противоречат нашим исследованиям, а именно при НАЖБП на фоне ИР отмечается повышение в моче уровня АЛК и ПБГ, что подтверждалось заметной корреляционной зависимостью между предшественниками порфиринов и индексом НОМА-IR ($r_s + 0,676$) и ($r_s + 0,618$) соответственно, характеризующим формирование ИР. При дополнительной статистической оценке значимости полученных данных по χ^2 – критерию Пирсона было установлено, что СД достоверно чаще регистрировался у больных с повышенной экскрецией предшественников порфиринов ($\chi^2 = 8,35$) при ($n' = 3$),

($p < 0,05$).

При сравнении частоты регистрации нарушений углеводного обмена у пациентов с мутацией С282У гена HFE расстройства углеводного обмена зарегистрированы в 83,3 % случаев (5 человек), тогда как у пациентов с мутацией Н63D гена HFE – только в 56,7 % случаев (17 человек).

Расстройства липидного обмена при НАЖБП являются одним из кардинальных признаков заболевания [82]. У всех пациентов были зарегистрированы идентичные нарушения липидного обмена. Однако по нашим данным у мужчин чаще регистрировалась тяжелая гиперхолестеринемия (более 7,8 ммоль/л). Дислипидемия при НАЖБП характеризуется повышением уровня ТГ более 1,7 ммоль/л и гипоальфахолестеринемией, при которой уровень ХС-ЛПВП менее 1,0 ммоль/л у мужчин и менее 1,2 ммоль/л у женщин, что является диагностическим критерием для НАЖБП [1]. Эти нарушения оказались более заметными у мужчин, что свидетельствовало о более тяжелых у них расстройствах липидного обмена.

Сравнительный анализ показателей липидного обмена в зависимости от варианта мутации гена HFE свидетельствовал, что показатели липидного спектра (ОХС, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП, ИА) существенно отклонялись от нормативных значений и независимо от мутаций не имели достоверных различий ($p > 0,5$). Исключением являлись результаты значений ТГ. Уровень ТГ значимо превышал целевой уровень, но у пациентов с мутацией Н63D его уровень был достоверно выше ($p < 0,05$) значения, которое было зафиксировано на фоне носительства мутации С282У.

Расстройства в обмене железа в отличие от нарушений обмена липидов, углеводов, порфиринов обнаруживались заметно реже, всего у 15 пациентов (в 21,4 % случаев). Сравнительный анализ обнаруженных нарушений у больных с выявленными мутациями С282У и Н63D в гене HFE и без таковых позволил обнаружить принципиальные различия, как в количественных, так и в качественных характеристиках показателей обмена железа. Только у пациентов с имеющимися мутациями С282У и Н63D в гене HFE были обнаружены признаки

синдрома хронической перегрузки железом. Причинно высокое содержание железа в сыворотке крови и тканях печени связывают с гетеро- и гомозиготным носительством мутантных аллелей 282Y и 63D гена гемохроматоза HFE [91; 176]. Возникает вопрос о дифференциальной диагностике с наследственным гемохроматозом. Вместе с тем рекомендуемые критерии диагностики наследственного гемохроматоза: повышение железа сыворотки крови и ферритина более 2 норм и коэффициента насыщения трансферрина железом более 60 % [34; 71] у обследованных нами пациентов отсутствовали.

Обнаружены также заметные отклонения в уровне фермента ГГТП, что свидетельствует о нарушении функции печени. Причем преимущественно и более значимо у пациентов с мутациями в гене HFE.

Таким образом, проведенное исследование позволяет выделить ряд закономерностей:

- во-первых, мутантные аллели 282Y и 63D гена HFE у больных НАЖБП и у лиц общей популяции встречаются с одинаковой частотой, поэтому можно предположить, что наличие данных мутаций не является причиной формирования НАЖБП;

- во-вторых, неклассифицированные расстройства порфиринового обмена зарегистрированы у большинства обследованных больных – 77 человек (68,8 % случаев); нарушения были вариабельны и складывались из различных биохимических признаков, впервые верифицированы биохимический синдром уропорфиринурии и комбинированные нарушения;

- в-третьих, у пациентов НАЖБП с мутациями в гене HFE нарушения порфиринового обмена не имели качественных различий, но регистрировались значительно чаще – в 80,3 % случаев;

- в-четвертых, у пациентов с мутациями в гене HFE расстройства углеводного и липидного обмена были более значимы, нарушения в обмене железа имели качественные и количественные особенности;

- в-пятых, метаболические нарушения при НАЖБП носят ассоциированный характер, при этом у большинства больных регистрируется одновременно нарушения в обмене липидов, углеводов и порфиринов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследование было включено 454 человека. В соответствии с целью и поставленными задачами была сформирована основная группа пациентов с НАЖБП, которая состояла из 112 больных. На основании анализа случайной выборки жителей г. Новосибирска (группа здоровых добровольцев), постоянно проживающих на территории Западно-Сибирского региона, была сформирована группа сравнения из 342 человек, обследованных в рамках программы «MONICA». Пациенты основной и добровольцы группы сравнения были лицами европейской расы. На следующем этапе исследования проводили определение генотипов HFE по полиморфным аллелям C282Y и H63D у больных НАЖБП и сопоставляли с результатами, полученными в группе сравнения. Далее у пациентов НАЖБП оценивали состояние функции печени, углеводного, липидного, порфиринового и обмена железа. Независимо от наличия или отсутствия мутаций аллелей C282Y и H63D гена HFE у пациентов НАЖБП проведен сравнительный и корреляционный анализ полученных результатов между выделенными группами. Критериями включения больных основной группы в исследование служил подтвержденный диагноз НАЖБП, согласно «Клиническим рекомендациям по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации» [35].

В исследование не включали пациентов с лекарственным поражением печени, алкогольной болезнью печени, циррозом печени любой этиологии, гепатотропной вирусной инфекцией, наркотической зависимостью, хронической обструктивной болезнью легких крайне тяжелой степени, острым инфарктом миокарда, острым коронарным синдромом, тяжелой сердечной недостаточностью (ФК_{III-IV} или НК_{III}), злокачественными заболеваниями, декомпенсированным СД с тяжелыми сосудистыми поражениями, заболеваниями крови, манифестными нарушениями порфиринового обмена (манифестная поздняя кожная порфирия, острая перемежающаяся порфирия), интоксикациями цветными металлами

(свинец, ртуть, кадмий и др.) в анамнезе, наследственными заболеваниями, в том числе у родственников, а также пациентов в возрасте старше 65 лет.

Все больные с НАЖБП обследованы общепринятыми клиническими и клинико-лабораторными и биохимическими методами исследования, которые позволили оценить обмен порфиринов, углеводов, липидов, функции печени и железа. Проведено одномоментное сравнительное исследование в параллельных группах, сравнительный и корреляционный анализ взаимосвязи выявленных мутаций 282Y и 63D гена HFE с метаболическими нарушениями свойственных НАЖБП.

Полученные при обследовании больных клинико-статистические данные и результаты унифицированных и специальных лабораторных исследований подвергали математической обработке. За статистически значимые принимались различия по величине достоверности ($p < 0,05$). Для определения тесноты связи между измеряемыми двумя переменными использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Степень тесноты связи считали заметной при r_s от 0,51 до 0,70 и высокой от 0,71 до 1,0. Для оценки корреляционных взаимоотношений между клиническими и биохимическими признаками использовали критерий χ^2 или коэффициент линейной корреляции Пирсона. При оценке достоверности различий пользовались таблицей χ^2 , считая результаты достоверными, если ($p < 0,05$) при соответствующих степенях свободы.

На основании проведенного исследования и полученных результатов установлен и сформулирован ряд выводов.

1. В целом по группе обследованных пациентов с НАЖБП мутантные аллели 282Y и 63D гена HFE зарегистрированы у 36 человек (32,1 %). Значительно чаще обнаруживалась аллель 63D гена HFE. Данная мутация выявлена у 30 человек (26,8 %). Мутация 282Y гена HFE наблюдалась только у 6 человек (5,4 %). Мутантный аллель 63D гена HFE регистрировался практически с одинаковой частотой как у мужчин, так и у женщин. Напротив, аллель 282Y гена HFE наблюдался в 5 раз реже – у 6 человек (5,4 %) и преимущественно у мужчин (5 человек, 4,5 %). Мутантные аллели 282Y и 63D гена HFE у лиц общей

популяции выявлены у 116 человек (33,9 %). Заметно чаще (в 4,5 раза), как и в основной группе, регистрировалась мутация по аллели H63D. Изменения наблюдались как у мужчин, так и у женщин. Мутация C282Y встречалась с одинаковой частотой, тогда как H63D – в 4,5 раза чаще обнаруживалась у мужчин.

2. Сравнительный анализ показателей липидного обмена у больных 1-й группы в зависимости от варианта полиморфизма гена HFE показал следующие результаты. Мутация C282Y гена HFE обнаружена у 6 человек, преимущественно у мужчин, мутация H63D – у 30 человек. Показатели липидного спектра (ОХС, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП, ИА) существенно отклонялись от нормативных значений. Исключением являлись результаты значений ТГ. Уровень ТГ значимо превышал целевой уровень, но у пациентов с полиморфизмом аллели H63D его уровень был достоверно выше ($p < 0,05$) значения, которое было зафиксировано у носителей аллеля 282Y.

3. Патологические отклонения в углеводном обмене в целом по группе обследованных пациентов с НАЖБП зарегистрированы у 73 человек (65,2 %). У 10 пациентов отклонения в углеводном обмене соответствовали нарушенной гликемии натощак (прандиальная гликемия), у 4 пациентов – нарушенной толерантности к глюкозе и у 59 человек – СД типа 2. При сравнении частоты регистрации нарушений углеводного обмена у пациентов с аллелем 282Y гена HFE расстройства углеводного обмена зарегистрированы в 83,3 % случаев (5 человек), тогда как у пациентов с аллелем 63D гена HFE – только в 56,7 % случаев (17 человек). В ходе обследования у 43 пациентов обнаружена ИР. Индекс НОМА-IR у них колебался от 2,49 до 18,6; в среднем ($6,45 \pm 1,4$). В группе больных (47 человек) с нормальными гомозиготными генотипами C282C и H63H ИР выявлена у 30 (63,8 %) больных. Значения индекса НОМА-IR были в пределах от 2,49 до 8,54; в среднем ($5,62 \pm 1,4$). В группе пациентов с заменами C282Y и H63D (18 человек) ИР зарегистрирована у 16 (88,9 %) больных. Индекс НОМА-IR у них колебался в пределах 3,59–13,4; в среднем ($6,41 \pm 1,3$). Частота регистрации ИР у этой категории больных оказалась достоверно выше ($p < 0,05$).

Инсулинорезистентность в этой группе больных выявлена у всех пациентов с нарушенным обменом порфиринов (13 человек, 72,2 %), что также было достоверно значимо ($p < 0,05$) в сравнении с пациентами с нормальными гомозиготными генотипами. При проведении оценки результатов, выявленных в ходе обследования больных, нарушений углеводного обмена методом корреляционного анализа, наиболее значимые и достоверные корреляционные отношения ($p < 0,001$) обнаружены между предшественником порфиринов δ -АЛК и расчётным показателем углеводного обмена, индекс НОМА-IR, который характеризует наличие и/или формирование ИР ($r_s + 0,676$) и ($r_s + 0,618$) соответственно). При дополнительной статистической оценке значимости полученных данных по χ^2 – критерию Пирсона было установлено, что СД достоверно чаще регистрировался у больных с повышенной экскрецией предшественников порфиринов ($\chi^2 = 8,35$) при ($n' = 3$), ($p < 0,05$).

4. При дифференцированной оценке показателей порфиринового обмена только у 35 человек (31,3 %) содержание всех фракций порфиринов в моче (УП, КП) их соотношение (КП/УП), а также δ -АЛК и ПБГ соответствовали контрольным значениям. У 77 (68,8 %) пациентов НАЖБП выявлены нарушения порфиринового обмена. Данные расстройства были весьма вариабельны, что не позволяло их классифицировать как известные варианты порфирий. В связи с чем, нами был введен термин «неклассифицированные расстройства порфиринового обмена». У больных НАЖБП верифицировали повышение δ -АЛК и ПБГ, изменение соотношения фракций УП и КП, изолированное повышение фракции КП – копропорфирурия (КП-урия), изолированное повышение фракции УП – урокопропорфирурия (УП-урия), повышение фракций УП и КП – урокопропорфирурия, сочетанные нарушения. Все эти биохимические варианты нарушений порфиринового обмена были зарегистрированы у 48 пациентов (63,2 %) без мутаций С282У и Н63D гена HFE. У больных с мутациями С282У и Н63D гена HFE аналогичные нарушения обнаружены у 29 человек (80,6 %), что оказалось достоверно чаще ($p < 0,05$). При сравнительной оценке состояния порфиринового обмена у пациентов с заменами С282У и Н63D

гена HFE и у больных с нормальными гомозиготными генотипами C282Y и H63D характеризовались аналогичными вариантами расстройств, качественных различий не обнаружено. Однако в количественном отношении степень выраженности нарушений оказалась достоверно ($p < 0,05-0,001$) выше у пациентов с аллелями 282Y и 63D гена HFE.

5. У пациентов основной группы с мутациями по гену HFE по совокупности обнаруженных отклонений от нормативных значений был констатирован синдром хронической перегрузки железом. У этих 7 больных нарушения в обмене железом ассоциировались с расстройствами в обмене порфиринов: у троих пациентов наблюдалось повышение δ -АЛК и ПБГ, у одного – УП-урия и у троих – урокопропорфиринурия. У пациентов без мутаций расстройства в обмене железа оказались менее значимы и ассоциации с расстройствами порфиринового обмена наблюдались реже.

6. Наиболее значимые отклонения от нормативных значений зарегистрированы при анализе ГГТП. Активность ГГТП у больных обеих групп была достоверно выше ($p < 0,001-0,025$) в сравнении с контролем. У пациентов 1-й группы с мутациями в гене HFE повышенные значения ГГТП (от 68,0 до 101,0 ед/мл, норма до 50,0 ед/мл) обнаружены у 7 человек (19,4 %), тогда как во 2-й группе у пациентов без мутаций гена HFE повышенный уровень ГГТП (от 51,1 до 68,8 ед/мл) наблюдался в 1,5 раза реже – у 11 человек (14,5 %). Вместе с тем, среднее значение данного показателя было достоверно ($p < 0,05$) выше у пациентов с мутациями гена HFE. При этом необходимо отметить, что расстройства углеводного обмена, которые могут способствовать и/или индуцировать повышение активности ГГТП несколько чаще наблюдались в группе пациентов без мутаций в гене HFE, соответственно 67,1 % и 61,1 % случаев. Это необходимо учитывать при дифференциальной диагностике алкогольного поражения печени. По нашему мнению не исключается, что более высокая активность ГГТП может быть обусловлена наличием мутации гена HFE.

Таким образом, результаты проведенного исследования доказывают необходимость проведения у пациентов НАЖБП генотипирования, в частности

определение мутаций 282Y и 63D гена HFE, что позволяет регистрировать более выраженные метаболические расстройства и свидетельствовать о возможном неблагоприятном течении НАЖБП.

ВЫВОДЫ

1. Неклассифицированные расстройства порфиринового обмена при неалкогольной жировой болезни печени регистрируются у большинства больных (68,8 %) в виде 5 биохимических синдромов, из которых синдром уропорфиринарии и комбинированные нарушения диагностированы впервые.

2. Нарушения порфиринового обмена у пациентов неалкогольной жировой болезнью печени при наличии мутаций гена HFE не имели качественных отличий, но оказались количественно более выраженными.

3. Расстройства в обмене железа у пациентов неалкогольной жировой болезнью печени при наличии мутаций гена HFE характеризовались качественными и количественными изменениями.

4. Нарушения в обмене липидов обнаружены у всех пациентов неалкогольной жировой болезнью печени, независимо от наличия мутаций гена HFE.

5. Расстройства углеводного обмена зарегистрированы у большинства больных (65,2 % случаев). У носителей мутаций гена HFE инсулинорезистентность заметно выше.

6. Отсутствуют различия в частоте мутаций C282Y и H63D гена HFE у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и у лиц из общей популяции – 32,1 % и 33,9 % соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов неалкогольной жировой болезнью печени при наличии мутаций C282Y и H63D гена HFE может наблюдаться высокая активность фермента гаммаглутамилтранспептидазы, что необходимо учитывать при дифференциальной диагностике алкогольного поражения печени.

2. Наличие полиморфизма гена HFE свидетельствует о нарушениях в обмене железа и формировании синдрома хронической перегрузки железом.

У пациентов с неалкогольной болезнью печени необходимо исследовать весь спектр показателей железа, особенно ферритин. Обнаружение нарушений в обмене железа указывает на высокую вероятность наличия мутаций в гене HFE.

3. У большинства пациентов неалкогольной жировой болезнью печени диагностируются неклассифицированные расстройства порфиринового обмена, особенно на фоне носительства мутаций в гене HFE.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

δ-АЛК	δ-аминолевулиновая кислота
АБП	алкогольная болезнь печени
АГ	артериальная гипертензия
АлАТ	аланиновая аминотрансфераза
АсАТ	аспарагиновая аминотрансфераза
ВКПУ	вторичная копропорфирурия
ГГТП	гаммаглутамилтранспептидаза
ИА	индекс атерогенности
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИМТ	индекс массы тела
ИР	инсулинорезистентность
КП	копропорфирин
КП-ген	копропорфириноген
НАЖБП	неалкогольная жировая болезнь печени
НАСП	неалкогольный стеатоз печени
НАСГ	неалкогольный стеатогепатит
ОП	общее количество порфиринов
ОХС	общий холестерин
ПБГ	порфобилиноген
ПКП	поздняя кожная порфирия
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СД	сахарный диабет
СЖК	свободные жирные кислоты
ТГ	триглицериды
ТТГ	тест толерантности к глюкозе
УП	уропорфирин
УП-ген	уропорфириноген
ХЛПП	хроническая латентная поздняя порфирия

ХС	холестерин
ХС-ЛПВП	холестерин-липопротеиды высокой плотности
ХС-ЛПНП	холестерин-липопротеиды низкой плотности
ХС-ЛПОНП	холестерин-липопротеиды очень низкой плотности
ЩФ	щелочная фосфатаза
ЦП	цирроз печени

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алгоритмы диагностики и лечения в гепатологии. Справочные материалы / В. Т. Ивашкин [и др.]. – М.: МЕДпресс-информ, 2016. – 176 с.
2. Алкогольная болезнь печени / А. И. Хазанов [и др.]. – М.: Люкс Принт, 2008. – 318 с.
3. Алкогольный цирроз печени и генетический полиморфизм алкогольдегидрогеназы (АДГ2) и ангиотензиногена (Т174М, М235Т) / О. С. Русакова [и др.] // Клин. фармакология и терапия. – 2006. – № 5. – С. 31–33.
4. Ассоциация Val34Leu полиморфизма гена фактора свертывания XIII с эффективностью тромболитической терапии у больных острым инфарктом миокарда / Я. М. Тераз [и др.] // Клин. фармакология и терапия. – 2007. – № 3. – С. 49–52.
5. Байракова, Ю. В. Прогностическая роль С-реактивного белка, аполипопротеина Е и полиморфизмов кодирующих их генов в развитии осложнений после реваскуляризации миокарда / Ю. В. Байракова, А. В. Понасенко, Я. В. Казачек // Сиб. мед. обозрение. – 2013. – № 2. – С. 9–13.
6. Бакулин, И. Г. Неалкогольный стеатогепатит: клинические особенности и принципы лечения / И. Г. Бакулин, Ч. С. Павлов // Врач. – 2007. – № 10. – С. 24–28.
7. Березин, Б. Д. Классификация. Молекулярная структура и свойства порфиринов / Б. Д. Березин, Н. С. Ениколопян // Порфирины: структура, свойства, синтез / под ред. акад. Н. С. Ениколопяна. – М.: Наука, 1985. – С. 7–48.
8. Блок, Б. УЗИ внутренних органов / Б. Блок; под ред. А. В. Зубарева; пер с нем. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 55–63.
9. Буторова, Л. И. Неалкогольная жировая болезнь печени как проявление метаболического синдрома: эпидемиология, патогенез, особенности клинического проявления, принципы диагностики, современные возможности лечения / Л. И. Буторова // Клиническая гепатология: пособие для врачей. – М., 2012. – С. 2–38.

10. Влияние генетического полиморфизма на формирование неалкогольной жировой болезни печени / О. Я. Бабак [и др.] // Гастроэнтерология. – 2013. – № 47. – С. 54–59.
11. Генетические аспекты заболеваний органов пищеварения. Часть I. / И. Н. Григорьева [и др.] // Терапевт. арх. – 2010. – № 2. – С. 62–66.
12. Герок, В. Заболевания печени и желчевыделительной системы / В. Герок, Х. Е. Блюм; под ред. В. Т. Ивашкина, А. А. Шептулина; пер с нем. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 200 с.
13. Гмыза, О. А. Состояние порфиринового обмена при неалкогольной жировой болезни печени : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.04 / Гмыза Оксана Александровна. – Новосибирск, 2013. – 18 с.
14. Двойрин, В. В. Необходимая численность групп наблюдения / В. В. Двойрин, Т. Х. Басиева, В. И. Гулая // Методика контролируемых клинических испытаний / В. В. Двойрин, А. А. Клименков. – М.: Медицина, 1985. – С. 123–144.
15. Дедов, И. И. Инсулиновая резистентность в патогенезе сахарного диабета 2-го типа и медикаментозная возможность её преодоления / И. И. Дедов, М. И. Балаболкин // Врач. – 2006. – № 11. – С. 6–9.
16. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени / М. В. Маевская [и др.]; под ред. акад. РАМН В. Т. Ивашкина. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 32 с.
17. Долгих, М. М. Молекулярно-генетическое исследование гипертрофии левого желудочка в популяции города Новосибирска : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М. М. Долгих. – Новосибирск, 1998. – 23 с.
18. Драпкина, О. М. Можно ли назначать статины пациентам с патологией печени / О. М. Драпкина, А. В. Клименков, В. Т. // Рус. мед. журн. – 2007. – № 2. – С. 74–79.
19. Драпкина, О. М. Неалкогольная жировая болезнь печени – современный взгляд на проблему / О. М. Драпкина, В. И. Смирин, В. Т. Ивашкин // Лечащий врач. – 2010. – № 5 – С. 57–61.

20. Драпкина, О. М. Неалкогольная жировая болезнь печени и метаболический синдром / О. М. Драпкина // Consilium Med. Гастроэнтерология. – 2008. – № 1. – С. 31–33.
21. Драпкина, О. М. Неалкогольный стеатогепатит. Рациональная гепатопротекция / О. М. Драпкина // Мед. вестн. – 2006. – № 42. – С. 385–388.
22. Драпкина, О. М. Сахарный диабет как фактор риска неалкогольной жировой болезни печени / О. М. Драпкина, В. И. Смирин, В. Т. Ивашкин // Врач. – 2010. – № 3. – С. 30–33.
23. Драпкина, О. М. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в России (результаты открытого многоцентрового проспективного исследования – наблюдения DIREGL 01903) / О. М. Драпкина, В. Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2014. – № 4. – С. 32–38.
24. Звенигородская, Л. А. Метаболический синдром и органы пищеварения / Л. А. Звенигородская, Л. Б. Лазебник. – М.: Анахарсис, 2009. – 184 с.
25. Звенигородская, Л. А. Морфологические изменения печени при инсулинорезистентности / Л. А. Звенигородская, С. Г. Хомерики, Е. Г. Егорова // Рус. мед. журн. – 2008. – № 4. – С. 161–165.
26. Ивашкин, В. Т. Диагностика и лечение диффузных заболеваний печени: метод. пособие / В. Т. Ивашкин. – М., 2004. – 72 с.
27. Ивашкин, В. Т. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени / В. Т. Ивашкин. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 112 с.
28. Ивашкин, В. Т. Клинические варианты метаболического синдрома / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина, О. Н. Корнеева. – М.: МИА, 2011. – 220 с.
29. Ивашкин, В. Т. Рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина. – М., 2012. – 98 с.
30. Ивашкин, В. Т. Фиброз печени / В. Т. Ивашкин, Ч. С. Павлов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 168 с.

31. Изучение связи гена IL4RA (ILE50VAL) с хроническим вирусным гепатитом / И. А. Гончарова [и др.] // Сиб. журн. гастроэнтерологии и гепатологии. – 2004. – № 18. – С. 185.
32. Ильченко, Л. Ю. Неалкогольный стеатогепатит / Л. Ю. Ильченко, Е. Г. Егорова // Качество жизни. Медицина. – 2007. – № 2. – С. 37–41.
33. Калинин, А. В. Гастроэнтерология и гепатология. Диагностика и лечение: рук. для врачей / А. В. Калинин, А. И. Хазанов. – М.: Миклош, 2007. – 602 с.
34. Клинико-генетическое исследование синдрома перегрузки железом при хронических диффузных заболеваниях печени / Е. А. Кулагина [и др.] // Бюл. СО РАМН. – 2009. – № 3. – С. 36–41.
35. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации / В. Т. Ивашкин [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. – № 2. – С. 1–20.
36. Клинический и биохимический синдромы острой порфиринопатии индуцированной кадмием / А. Б. Кривошеев, Б. Н. Кривошеев, Е. Л. Потеряева, Л. В. Паруликова, О. И. Михайленко // Терапевт. арх. – 2010. – № 10. – С. 65–70.
37. Колдвелл, С. Г. Неалкогольная жировая болезнь печени / С. Г. Колдвелл, А. М. С. Аль-Осайми, К. К. Арго // Болезни печени по Шиффу. Алкогольные, лекарственные, генетические и метаболические заболевания / Ю. Р. Шифф, М. Ф. Соррел, У. С. Мэддрей; пер. с англ. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – С. 393–446.
38. Корнеева, О. Н. Неалкогольная жировая болезнь печени как проявление метаболического синдрома / О. Н. Корнеева, О. М. Драпкина, А. О. Буеверов // Клин. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2005. – № 4. – С. 21–24.
39. Корнеева, О. Н. Показатели инсулинорезистентности при неалкогольной жировой болезни печени у пациентов с метаболическим синдромом / О. Н. Корнеева, О. М. Драпкина // Гепатология сегодня: материалы

13-й рос. конф. (Москва, 17–19 марта 2008 г.) // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – Т. 18, № 1 S31. – С. 61.

40. Кособян, Е. П. Современные концепции патогенеза неалкогольной жировой болезни печени / Е. П. Кособян, О. М. Смирнова // Сахарный диабет. – 2000. – № 1. – С. 55–64.

41. Кривошеев, А. Б. Метаболизм порфиринов при циррозах печени / А. Б. Кривошеев // Эксперим. клин. гастроэнтерология. – 2006. – № 4. – С. 80–84.

42. Кривошеев, А. Б. Поздняя кожная порфирия, индуцированная противосудорожным препаратом «Карбамазепин» / А. Б. Кривошеев, Б. Н. Кривошеев // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2010. – № 1. – С. 19–23.

43. Кривошеев, А. Б. Сравнительная характеристика обмена порфиринов при хронических вирусных поражениях печени / А. Б. Кривошеев, М. А. Кондратова, Б. Н. Кривошеев // Терапевт. арх. – 2011. – № 2. – С. 40–47.

44. Кривошеев, Б. Н. Заболевания внутренних органов при манифестных и латентных нарушениях порфиринового обмена / Б. Н. Кривошеев, А. Д. Куимов, А. Б. Кривошеев. – М.: ИНФРА-М, 2014. – 296 с.

45. Кушкин, А. А. Лабораторная диагностика нарушений порфиринового обмена (лекция) / А. А. Кушкин, С. Л. Арсенин // Клин. лаб. Диагностика. – 2012. – № 10. – С. 33–40.

46. Логвиненко, Е. В. Клинико-генетические особенности желчнокаменной болезни в сочетании с метаболическим синдромом : автореф. дис. ... канд. мед. наук 14.01.04 / Логвиненко Евгения Витальевна. – Новосибирск, 2013. – 18 с.

47. Ложкина, Н. Г. острый коронарный синдром: клинические, биохимические и молекулярно-генетические аспекты отдаленного прогнозирования : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.05 / Наталья Геннадьевна Ложкина. – Новосибирск, 2016. – 42 с.

48. Маевская, М. В. Пациент с бессимптомным повышением сывороточных трансаминаз / М. В. Маевская, Е. Н. Герман // Путь к диагнозу /

под ред. акад. РАМН В. Т. Ивашкина. – М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 48 с.

49. Михайлова, С. В. Полиморфизм гена наследственного гемохроматоза HFE у населения Сибири : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.02.07 / Михайлова Светлана Владимировна. – Новосибирск, 2010. – 19 с.

50. Моисеев, В. С. Генетические факторы и сердечно-сосудистый риск / В. С. Моисеев // Клин. фармакология и терапия. – 2007. – № 3. – С. 18–20.

51. Мур, М. Р. Диагностика и лечение острых порфирий / М. Р. Мур // Гематология и трансфузиология. – 1992. – № 11–12. – С. 33–40.

52. Муслимова, Э. Ф. Молекулярно-генетические факторы развития осложнений после стентирования коронарных артерий у больных хронической ИБС : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.03 / Муслимова Эльвира Фаритовна. – Томск, 2016. – 22 с.

53. Мясников, А. Л. Болезни печени / А. Л. Мясников. – М., 1949. – 507 с.

54. Неалкогольная жировая болезнь печени в клинике внутренних болезней / Ч. С. Павлов [и др.] // РМЖ. – 2010. – № 28. – С. 1742–1749.

55. Неалкогольная жировая болезнь печени: пособие для врачей / И. В. Маев. – М.: Прима Принт, 2017. – 64 с.

56. Недогода, С. В. Неалкогольная жировая болезнь печени / С. В. Недогода, Т. Н. Санина, Д. А. Почепцов // Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та. – 2009. – № 3. – С. 3–11.

57. Опарин, А. И. Преобразование энергии света при фотосинтезе / А. И. Опарин, А. А. Красновский, А. В. Умрихина // Хлорофилл / под ред. А. А. Шлыка. – Минск : Наука и техника, 1974. – С. 37–48.

58. Пальгова, Л. К. Генетические факторы патогенеза НАЖБП: фундаментальные и прикладные аспекты. Есть ли пути решения? / Л. К. Пальгова // Consilium Med. Гастроэнтерология. – 2014. – № 1. – С. 18–23.

59. Принципы ведения пациента с бессимптомным повышением активности сывороточных аминотрансфераз (клиническое наблюдение) / Е. Н. Герман [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2011. – № 21. – С. 63–68.

60. Радченко, В. Г. Особенности течения билиарного сладжа на фоне неалкогольной жировой болезни печени / В. Г. Радченко, П. В. Селиверстов // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2015. – № 11. – С. 5–9.
61. Распространение аллелей C282Y, H63D и S65C гена HFE и предрасположенность к нарушениям метаболизма железа в популяциях России / С. В. Михайлова [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – № 4. – С. 13–17.
62. Северов, М. В. Неалкогольная жировая болезнь печени / М. В. Северов // Клин. фармакология и терапия. – 2008. – № 1. – С. 11–15.
63. Современные подходы к диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени / О. М. Драпкина [и др.] // Терапевт. арх. – 2014. – № 10. – С. 116–123.
64. Состояние порфиринового обмена при неалкогольном стеатогепатите / А. Б. Кривошеев [и др.] // Терапевт. арх. – 2008. – № 11. – С. 64–68.
65. Токсическое действие кадмия на организм человека (обзор литературы) / А. Б. Кривошеев, Е. Л. Потеряева, Б. Н. Кривошеев, Л. Я. Куприянова, Е. Л. Смирнова // Медицина труда и пром. экология. – 2012. – № 6. – С. 35–42.
66. Трухан, Д. И. Неалкогольная жировая болезнь печени в практике врача «первого контакта» / Д. И. Трухан // Клин. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2012. – № 1. – С. 55–61.
67. Ференси, П. Гемохроматоз и болезнь Вильсона / П. Ференси // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – № 4. – С. 64–66.
68. Хазанов, А. И. Возможности прогрессирования алкогольного и неалкогольного стеатогепатита в цирроз печени / А. И. Хазанов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 2. – С. 26–32.
69. Цуканов, В. В. Распространенность и факторы риска развития неалкогольной жировой болезни печени у взрослого городского населения Сибири (Результаты открытого многоцентрового проспективного исследования

DIREG_L_01903) / В. В. Цуканов, Э. В. Лукичева, Ю. Л. Тонких // Рос. мед. вести. – 2010. – № 2. – С. 4–12.

70. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчевыводящих путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули; пер с англ. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 864 с.

71. Шифф, Ю. Р. Болезни печени по Шиффу. Алкогольные, лекарственные, генетические и метаболические заболевания / Ю. Р. Шифф, М. Ф. Соррел, У. С. Мэддрей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 476 с.

72. Шульпекова, Ю. О. Неалкогольная жировая болезнь печени: патогенез, диагностика, лечение / Ю. О. Шульпекова // Фарматека. – 2007. – № 6. – С. 48–53.

73. Шульпекова, Ю. О. Стеатоз печени и неалкогольный стеатогепатит / Ю. О. Шульпекова, Ю. В. Тельных // Болезни печени и желчевыводящих путей: рук. для врачей / под ред. акад. РАМН В. Т. Ивашкина. – М.: ИД М-Вести, 2002. – С. 113–121.

74. Эффективность эластографии печени в определении стадии фиброза у больных с неалкогольной жировой болезнью печени / Н. В. Топильская [и др.] // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2011. – № 6. – С. 26–31.

75. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin genes is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity / S. Sookoan [et al.] // J. Lipid. Res. – 2009. – Vol. 50. – P. 2111–2116.

76. A novel MHC class I-like is mutated in patients with hereditary hemochromatosis / J. N. Feder [et al.] // Nat. Genet. – 1996. – Vol. 13. – P. 399–408.

77. A pharmacogenetic effect of factor F XIII Valine34Leucine polymorphism on fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction / F. Marin [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2005. – Vol. 45, № 1. – P. 25–29.

78. Abdemalek, M. E. Nonalcoholic fatty liver disease as a complication of insulin resistance / M. E. Abdemalek, A. M. Diehl // Med. Clin. North. Am. – 2007. – Vol. 9, № 6. – P. 1125–1149.

79. Adams, L. A. Nonalcoholic fatty liver disease / L. A. Adams, P. Angulo, K. D. Lindor // CMA J. – 2005. – Vol. 172. – P. 899–905.

80. Aizencarg, G. I. Uroporphyrinogen III syntheses. An alternative promoter controls erythroid-specific expression in the murine gene / G. I. Aizencarg, D. F. Bishop // *Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 2295–2304.
81. Anderson, K. E. The porphyrias: Cecil Textbook of Medicine / K. E. Anderson; eds. L. Goldman, D. Ausiello. – Philadelphia: W. B. Saunders Co, 2004. – P. 1292–1300.
82. Angulo, P. Nonalcoholic fatty liver disease / P. Angulo // *New Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 346. – P. 1221–1231.
83. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk / A. M. Bennet [et al.] // *J. Am. Med. Ass.* – 2007. – Vol. 298, № 11. – P. 1300–1311.
84. Association of $\beta 1$ and $\beta 3$ adrenergic receptors gene polymorphisms with insulin resistance and high lipid profiles related to type 2 diabetes and metabolic syndrome / A. I. Burguete-Garcia [et al.] // *Nutr. Hosp.* – 2014. – Vol. 1, № 29. – P. 1327–1334.
85. Banks, R. Proteomics: new perspectives / R. Banks // *Lancet.* – 2000. – Vol. 356. – P. 1749.
86. Bataller, R. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal / R. Bataller, K. North, D. Brenner // *Hepatology.* – 2003. – Vol. 37. – P. 493–503.
87. Bellentani S. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease / S Bellentani, F. Scaglioli, M. Marino // *Dig. Dis* – 2010. – Vol. 28. – P. 155–161.
88. Berkinbayev, S. Apolipoprotein Gene Polymorphisms (APOB, APOC111, APOE) in the Development of Coronary Heart Disease in Ethnic Groups of Kazakhstan / S. Berkinbayev, M. Rysuly, A. Mussayev // *J. Genet. Syndr. Gene Ther.* – 2014. – Vol. 24, № 5. – P. 216.
89. Brudevold, R. Hyperferritinemia is associated with insulin resistance and fatty liver in patients without iron overload / R. Brudevold, T. Hole, J. Hammerstrom // *PlosOne.* – 2008. – Vol. 3. – P. 35–47.
90. Bugianesi, E. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic

fatty liver disease: sites and mechanisms / E. Bugianesi, A. Gastaldello, E. Vanni // *Diabetologia*. – 2005. – Vol. 48. – P. 634–642.

91. Bulaj, Z. J. Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda / Z. J. Bulaj, S. Phillips, R. S. Ajioka // *Blood*. – 2000. – Vol. 95. – P. 1565–1571.

92. Caldwell, S. H. Is NASH underdiagnosed among African Americans / S. H. Caldwell, D. M. Harris, E. E. Hespdenheide // *Am. J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 97. – P. 1496–1500.

93. Caldwell, S. H. Therapy of NAFLD: insulin sensitizing agents / S. H. Caldwell, C. K. Argo, A. M. Al-Osaimi // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 40. – P. 61–66.

94. Chen, P. Meta-analysis on the association of AGT M235T polymorphism and essential hypertension in Chinese population / P. Chen, Y. F. Jiang, K. Cheng // *Zhonghua*. – 2003. – № 24. – P. 711–714.

95. Cheung, O. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease / O. Cheung, A. J. Sanyal // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2010 – Vol. 26 – P. 202–208.

96. Chitturi, S. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / S. Chitturi, G. C. Farrell // *Sem. Liv. Dis.* – 2001. – Vol. 21. – № 1. – P. 27–41.

97. Chitturu, S. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome / S. Chitturu // *Hepatology*. – 2002. – Vol. 35. – P. 373–379.

98. Clark, J. M. Nonalcoholic fatty liver disease: under-recognized cause of cryptogenic cirrhosis / J. M. Clark, A. M. Diehl // *JAMA*. – 2003. – Vol. 289. – P. 3000–3004.

99. Clark, J. M. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults / J. M. Clark // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 40. – P. 5–10.

100. Co-inheritance of mutations in the uroporphyrinogen decarboxylase and hemochromatosis genes accelerates the onset of porphyria cutanea tarda / J. J. Brady [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – Vol. 115. – P. 868–874.

101. Cope, M. B. Obesity: person and population / M. B. Cope, D. B. Allison //

Obesity. – 2006. – Vol. 14, suppl. 4. – P. 156–159.

102. CYP7A1A-278C polymorphism affects the response of plasma lipid after dietary cholesterol or cafestol interventions in humans. The American Society for Nutritional Sciences / M. K. Hofman [et al.] // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 134. – P. 2200–2204.

103. Day, C. P. Genetic and environmental susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease / C. P. Day // *Dig. Dis.* – 2010. – Vol. 28. – P. 255–260.

104. Day, C. P. Steatohepatitis: a tale of two « hits»? / C. P. Day, O. James // *Gastroenterology.* – 1998. – Vol. 114. – P. 842–845.

105. Day, C. P. The potential role of genes in nonalcoholic fatty liver disease / C. P. Day // *Clin. Liver Dis.* – 2004. – Vol. 8. – P. 673–692.

106. De Aluvis, N. M. W. Nonalcoholic fatty liver disease: The mist gradually clears / N. M. W. De Aluvis, C. P. Day // *J. Hepatol.* – 2008. – Vol. 48. – P. 104–112.

107. Deybach, J. C. Haem biosynthesis and the porphyrias / J. C. Deybach, L. Gouya // *Iron.* – 2009. – Vol. 27. – P. 624–641.

108. Disorders of porphyrin metabolism / M. R. Moore [et al.]. – New York, 1987. – 240 p.

109. Dixon, J. Nonalcoholic fatty liver disease predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese / J. Dixon, P. Bhatnal, P. O'Brien // *Gastroenterology.* – 2001. – Vol. 121. – P. 91–100.

110. Does nonalcoholic fatty liver disease predispose patients to hepatocellular carcinoma in the absence of cirrhosis? / G. Guzman [et al.] // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2008. – Vol. 132. – P. 1761–1766.

111. Doss, M. O. Alcohol and porphyrin metabolism / M. O. Doss // *Alcohol and alcoholism.* – 2000. – Vol. 35. – P. 109–125.

112. Doss, M. O. Alcohol and porphyrin metabolism. Alcohol related disease in gastroenterology / M. O. Doss, H. K. Seitz, B. Kammerell. – Berlin, 1985. – P. 232–252.

113. Downey, D. C. Porphyrin and chemicals / D. C. Downey // *Med. Hypotheses.* – 1999. – Vol. 53, № 2. – P. 166–171.

114. Dunaif, A. Selective insulin resistant in the polycystic ovary syndrome / A. Dunaif // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1999. – Vol. 84. – P. 3110–3116.
115. Dzau, V. Risk assessment in cardiovascular disease: from traditional risk factor to genomics / V. Dzau // *Eur. Heart. J.* – 2003. – Vol. 5. – P. F48–F55.
116. Eckel, R. Obesity: mechanism and clinical management / R. Eckel. – Philadelphia, USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2003. – 592 p.
117. Effect of genetic variants related to lipid metabolism as risk factors for cholelithiasis after bariatric surgery in Brazilian population / S. Pinheiro-Junior [et al.] // *Obes. Surg.* – 2012. – Vol. 22, № 4. – P. 623–633.
118. Fan, J. G. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in China / J. G. Fan, G. C. Farrell // *J. Hepatol.* – 2009. – Vol. 50. – P. 204–210.
119. Fan, J. G. Fatty liver and the metabolic syndrome among shanghai adults / J. G. Fan, J. Zhu, X. J. Li // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2005. – Vol. 20. – P. 1825–1832.
120. Fargion, S. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for nonalcoholic steatohepatitis / S. Fargion // *Am. J. Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 96. – P. 2448–2455.
121. Fatty liver and its fibrosis changes found in simple obesity in children / A. Kinugasa [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 1984. – Vol. 3. – P. 408–414.
122. Fletcher, L. M. Interrelationships of alcohol and iron in liver disease with particular reference to the iron – binding proteins, ferritin and transferrin / L. M. Fletcher, J. W. Halliday, L. W. Powell // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1999. – Vol. 14, № 2. – P. 202–214.
123. Geier, D. Prospective assessment of porphyrins in autistic disorders a potential marker for heavy metal exposure / D. Geier, M. Geier // *Neurotox. Res.* – 2006. – Vol. 10, № 1. – P. 6.
124. Gene expression profiles of nondiabetic and diabetic obese mice suggest a role of hepatic lipogenic capacity in diabetes susceptibility / H. Lan [et al.] // *Diabetes.* – 2003. – Vol. 52. – P. 688–700.

125. Genetic risk and gene–environment interaction in coronary artery spasm in Japanese men and women / Y. Murase [et al.] // *Eur. Heart. J.* – 2004. – Vol. 25, № 11. – P. 970–977.
126. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fattiliver disease / S. Romeo [et al.] // *Nat. Genet.* – 2008. – Vol. 40. – P. 1461–1465.
127. Ghouri, N. Liver enzymes, nonalcoholic fatty liver disease, and incident cardiovascular disease: a narrative review and clinical perspective of prospective data / N. Ghouri, D. Preiss, N. Sattar // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 52 – P. 1156–1161.
128. Grelli, D. Polymorphism in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction / D. Grelli, R. Corrocher // *Harrison's Advances in Cardiology.* – Braunwald, 2003. – 106 p.
129. Gupte, P. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus / P. Gupte // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2004. – Vol. 19. – P. 854–858.
130. Hamaguchi, M. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease / M. Hamaguchi // *Ann. Int. Med.* – 2005. – Vol. 143. – P. 722–728.
131. Hashimoto, E. Prevalence, gender, ethnic, and prognosis of NASH / E. Hashimoto, K. Tokushigie // *J. Gastroenterol.* – 2011. – Vol. 46, № 1. – P. 63–69.
132. Hereditary hemochromatosis Effects of C282Y and H63D mutations on association with β_2 –microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells / A. Waheed [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 12384–12389.
133. Hereditary hemochromatosis: HFE mutation analysis in Greeks reveals genetic heterogeneity / G. Papanikoloa [et al.] // *Blood Cells Mol. Dis.* – 2000. – Vol. 26, № 1. – P. 163–168.
134. HFE mutations in patients with hereditary haemochromatosis in Sweden / E. M. Cardoso [et al.] // *J. Int. Med.* – 1998. – Vol. 243, № 2. – P. 203–208.
135. High prevalence of NASH among Mexican American famales with type II diabetes mellitus / N. M. Kemmer [et al.] // *Gastroenterology.* – 2001. – Vol. 120. – P. A117.
136. High prevalence of the His63Asp HFE mutation in Italian patients with

porphyria cutanea tarda / M. Sampiarto [et al.] // *Hepatology*. – 1998. – Vol. 27, № 1. – P. 181–184.

137. Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty disease / J. B. Schwimmer [et al.] // *Hepatology*. – 2005a. – Vol. 42. – P. 641–649.

138. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin 1148M polymorphysm influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver diseases / L. Valenti [et al.] // *Hepatology*. – 2010. – Vol. 51. – P. 1209–1217.

139. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C / E. E. Powell [et al.] // *Hepatology*. – 2000. – Vol. 31. – P. 828–833.

140. Idiopathic steatohepatitis in children: a multicenter retrospective study / A. D. Baldrige [et al.] // *J. Pediatr.* – 1995. – Vol. 127. – P. 700–704.

141. Influence of gender, race, and ethnicity on suspected fatty liver in obese adolescents / J. B. Schwimmer [et al.] // *Pediatrics*. – 2005. – Vol. 115. – P. 561–565.

142. Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: machanisms and consequences / I. A. Leclereq [et al.] // *J. Hepatol.* – 2007. – Vol. 47, № 1. – P. 142–156.

143. Jukema J.W., van Boven AJ, Groenemeijer B, Zwinderman AH, Reiber JH, Brusckhe AV, Henneman JA, Molhoek GP, Bruin T. The Asp9Asn mutation in the lipoprotein lipase gene is associated with increased progression of coronary atherosclerosis. *Circulation*. 1996; 94: 1913–1918.

144. Kimura, Y. Postprandial insulin secretion pattern is associated with histological severity in nonalcoholic fatty liver disease patients without prior know diabetes mellirus / Y. Kimura, H. Hyogo, T. Ishitobi // *J. Gastroenteol. Hepatol.* – 2011. – Vol. 26. – P. 517–522.

145. Kowdley, K. V. The role of iron in nonalcoholic fatty liver disease: the story continues / K. V. Kowdley // *Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 138. – P. 817–819.

146. Lamaril, J. Hemochomatosis (HFE) and transferinreceptor-1 (TFRC1) genes in sporadic porphyria cutanea tarda (sPCT) / J. Lamaril, C. Adant // *Cell. Mol. Biol.* – 2002. – Vol. 48. – № 1. – P. 33–41.

147. Lazo, M. Non-alcoholic fatty liver disease and mortality among US adults:

prospective cohort study / M. Lazo, R. Hernaez, S. Bonekamp // *BMJ*. – 2011. – Vol. 343. – P. 6891.

148. 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.

149. Lith genes and genetic analysis of cholesterol gallstone formation. *Gastroenterol* / H. H. Wang [et al.] // *Clin. Noeth. Am.* – 2010. – Vol. 39, № 2. – P. 185–207.

150. Liu, J. B. The relationship between polymorphism of angiotensinogen gene and essential hypertension / J. B. Liu // *J. Epidemiol.* – 2000. – Vol. 21. – P. 407–409.

151. Lonardo, A. Review article: hepatic steatosis and insulin resistance / A. Lonardo // *Aliment Pharmacol. Ther.* – 2005. – Vol. 22, suppl. 2. – P. 64.

152. Loria, P. Epidemiologia et storia naturale delle hepatopatia steatosica nonalcoholica / P. Loria, A. Lonardo. C. Lombardini // *Ann. Ital. Med. Int.* – 2003. – Vol. 18, № 1. – P. 15–18.

153. Maitland-van derZee, A. H. Genetic polymorphisms and response to HMG-CoA reductase inhibitors / A. H. Maitland-van derZee, O. H. Klugel, A. de Boer // *Cardiovascular genomics* / eds. M. K. Raizada [et al.]. – New York: Humana Press, 2005. – P. 95–104.

154. Manchanayake, J. Postprandial hyperinsulinemia is universal in non-diabetic patients with nonalcoholic fatty liver disease / J. Manchanayake, S. Chitturi, C. Nolan // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2011. – Vol. 26. – P. 510–516.

155. Marcello, R. P. Hepatic Steatosis Is Associated With Aortic Valve Sclerosis in the General Population. The Study of Health in Pomerania (SHIP) / R. P. Marcello, E. B. Sebastian, S. Jan // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2013. – Vol. 33. – P. 1690–1695.

156. Maruno, M. Highly heterogeneous nature of delta-aminolevulinatase deficiencies in ALAD porphyria / M. Marun, K. Furuyama // *Blood*. – 2001. – Vol. 97. – P. 21805–21808.

157. McCullough, A. J. The epidemiology and risk factors of NASH / A. J. McCullough // *Fatty Liver Disease: NASH and related Disorders* / G. C. Farrell, J. George, P. Hall, A. J. McCullough eds. – Oxford: Blackwell, 2005. – P. 23–37.
158. Mendiola, A. E. Risk factors for NASH in patient with cryptogenic cirrhosis / A. E. Mendiola, R. G. Gish // *Gastroenterology*. – 2001. – Vol. 120. – P. A545.
159. Merriman, R. B. Genetic influences in nonalcoholic fatty liver disease / R. B. Merriman, B. E. Aouizerat, N. M. Bass // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2005. – 39, suppl. 4. – P. S286–S289.
160. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity / G. Musso [et al.] // *Ann Med.* – 2011. – Vol. 43. – P.617–649.
161. Miyaoka, K. CD36 deficiency associated with insulin resistance / K. Miyaoka, T. Kuwasako, K. Hirano // *Lancet*. – 2001. – Vol. 357. P. 686–688.
162. Molleston, J. P. The histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease / J. P. Molleston // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 42. – P. 536–538.
163. Nelson, J. HFE C282Y mutations are associated with advanced hepatic fibrosis in Caucasians with nonalcoholicsteatohepatitis / J. Nelson, R. Bhattacharya, K. Lindor // *Hepatology*. – 2007. – Vol. 46. – P. 723–729.
164. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease / I. R. Willner [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 96. – P. 2957–2961.
165. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes / Z. M. Younossi [et al.] // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2004. – Vol. 2, № 3. – P. 262–265.
166. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of metabolic syndrome / G. Marchesini [et al.] // *Diabetea*. – 2001. – Vol. 50. – P. 1844–1850.
167. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity / C. A. Matteoni [et al.] // *Gastroenterology*. – 1999. – Vol. 116. – P. 1413–1419.

168. Nonalcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutation of the HFE gene in nonalcoholic steatohepatitis / H. L. Bonkovsky [et al.] // *J. Hepatol.* – 2000. – Vol. 33. – P. 1024–1026.

169. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histologic lesions / E. M. Brunt [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 1999. – Vol. 94. – P. 2467–2474.

170. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease / J. Ludwig [et al.] // *Mayo Clin. Proc.* – 1980. – Vol. 55. – P. 434–438.

171. Nonalcoholic steatohepatitis: on expanded clinical entity / B. R. Bacon [et al.] // *Gastroenterology.* – 1994. – Vol. 107. – P. 1103–1109.

172. Obesity, insulin resistance, and other clinicopathological correlates of pediatric nonalcoholic fatty liver disease / J. B. Schwimmer [et al.] // *J. Pediatr.* – 2003. – Vol. 143. – P. 500–505.

173. Oneta, C. M. Non-alcoholic fatty liver disease: treatment options based on pathogenic considerations / C. M. Oneta, J. F. Dufour // *Swiss Med. Wkly.* – 2002. – Vol. 132. – P. 493–505.

174. Ong, J. P. Increased overall mortality and liver-related mortality in nonalcoholic fatty liver disease / J. P. Ong, A. Pitts, Z. M. Younossi // *J. Hepatol.* – 2008. – Vol. 49. – P. 608–612.

175. Patel, N. Non-alcoholic steatohepatitis in type 2 diabetes mellitus / N. Patel // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2004. – Vol. 19. – P. 854–858.

176. Porphyria cutanea tarda, Hepatitis C, and HFE gene mutation in North America / H. Bonkovsky [et al.] // *Hepatology.* – 1998. – Vol. 27. – P. 1661–1669.

177. Powell, E. E. Steatosis: Co-factor in other liver diseases / E. E. Powell, J. R. Jonsson // *Hepatology.* – 2005. – Vol. 42, № 1. – P. 5–13.

178. Prevalence and factors of nonalcoholic fatty liver disease among Korean adults / S. Park [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 21, № 1. – P. 138–143.

179. Prevalence and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease: the

Dionysos nutrition and liver study / G. Bedogni [et al.] // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 42, № 1. – P. 44–52.

180. Prevalence of and Risk Factors for Hepatic Steatosis in Northern Italy / S. Bellentani [et al.] // *Ann. Int. Med.* – 2000. – Vol. 132, № 2. – P. 112–117.

181. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity / J. D. Browning [et al.] // *Hepatology*. – 2004. – Vol. 40, № 6. – P. 1387–1395.

182. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and advanced fibrosis in Hong Kong Chinese: a population study using proton-magnetic resonance spectroscopy and transient elastography / V. W. Wong [et al.] // *Radiology*. – 2012. – Vol. 61, № 3. – P. 409–415.

183. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients / G. Targher [et al.] // *Diabetes Care*. – 2007. – Vol. 30, № 5. – P. 1212–1218.

184. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994 / M. Lazo [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2013. – Vol. 178, № 1. – P. 38–45.

185. Prevalence of nonalcoholic steatohepatitis among ethnic groups / L. Santos [et al.] // *Gastroenterology*. – 2001. – Vol. 120. – P. A630.

186. Puneet, K. N. Porphyrin Metabolism / K. N. Puneet // *Intermed. Metab.* – 2007. – Vol. 3, № 1. – P. 1–30.

187. Rashid, M. Nonalcoholic steatohepatitis in children / M. Rashid, E. A. Roberts // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2000. – Vol. 30, № 1. – P. 48–53.

188. Reid, A. E. Nonalcoholic steatohepatitis / A. E. Reid // *Gastroenterology*. – 2001. – Vol. 121. – P. 710–723.

189. Ressayre, D. Non-alcoholic steatohepatitis: potential causes and pathogenic mechanisms / D. Ressayre, A. Mansori // *Hepatology*. – 2000. – Vol. 20. – P. 57–76.

190. Reynaert, H. The treatment of non-alcoholic steatohepatitis with thiazolidinediones / H Reynaert, A. Geerts // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2005. – Vol. 22, № 10. – P.897–905.

191. Rhee, E. J. Hyperinsulinemia and the development of nonalcoholic Fatty liver disease in nondiabetic adults / E. J. Rhee, W.Y. Lee, Y. K. Cho // *Am. J. Med.* – 2011. – Vol. 124. – P. 69–76.
192. Roberts, E. A. Pediatric nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): A “growing” problem? / E. A. Roberts // *J. Hepatol.* – 2007. – Vol. 46, № 6. – P. 1133–1142.
193. Role of hyperinsulinemia and glucose intolerance in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver in patients with normal body weight / J. H. Lee [et al.] // *Korean J. Intern. Med.* – 1998. – Vol. 13. – P. 12–14.
194. Samir, P. Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease / P. Samir, A. A. Frank // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 132. – P. 2191–2207.
195. Samuel, V. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease / V. Samuel // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 2345–2353.
196. Sassa, S. Molecular aspects of the inherited porphyrias / S. Sassa, A. Kappas // *J. Int. Med.* – 2000. – Vol. 247. – P. 169–178.
197. Shah, A. G. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease / A. G. Shah, A. Lydecker, K. Murrar // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 1104–1112.
198. Simonen, P. Cholesterol synthesis is increased and absorption decreased in non-alcoholic fatty liver disease independent of obesity / P. Simonen, A. Kotronen, M. Hallikainen // *J. Hepatol.* – 2011. – Vol. 54. – P. 153–159.
199. Solis, C. Uroporphyrinogen III synthase erythroid promoter mutations in adjacent GATA1 and CP2 elements cause congenital erythropoietic porphyria / C. Solis, G. I. Aizencang // *Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 107. – P. 753–762.
200. Steatohepatosis in obese children: a cause of chronic liver dysfunction / J. R. Moran [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 1983. – Vol. 78. – P. 374–377.
201. Stickel, F. C. The role of genetic polymorphisms in alcoholic liver disease / F. Stickel, C. Osterreicher // *Alcohol. Alcoholism.* – 2006. – Vol. 41. – P. 209–222.
202. Sung, K. C. Interrelationship between Fatty Liver and Insulin Resistance in

the Development of Type 2 Diabetes / K. C. Sung, S. H. Kim // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96. – P. 1093–1097.

203. Targher, G. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes / G. Targher, L. Bertolini, R. Padovani // *J. Hepatol.* – 2010. – Vol. 53. – P. 713–718.

204. Targher, G. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease / G. Targher, P. D. Day, E. N. Bonora // *Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363. – P. 1341–1350.

205. Thadani, H. Diagnosis and management of porphyria / H. Thadani, A. Deacon // *BMJ.* – 2000. – Vol. 320. – P. 1647–1651.

206. Thaler, H. Relation of steatosis to cirrhosis / H. Thaler // *Clin. Gastroenterol.* – 1957. – Vol. 4. – P. 273–280.

207. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease / Y. Rotman [et al.] // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 52. – P. 894–903.

208. The C282Y mutation in the haemochromatosis gene (HFE) and hepatitis C virus infection are independent cofactors for porphyria cutanea tarda in Australian patients / K. A. Stuart [et al.] // *J. Hepatol.* – 1998. – Vol. 28. – P. 404–409.

209. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure / P. Ariens [et al.] // *Blood.* – 2000. – Vol. 96. – P. 988–995.

210. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding / J. N. Feder [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 1998. – Vol. 95. – P. 1472–1477.

211. The porphyrias: clinical presentation, diagnosis and treatment / P. Poblete-Gutierrez [et al.] // *Eur. J. Dermatol.* – 2006. – Vol. – 16. – P. 230–240.

212. Thunell, S. Porphyrins, porphyrin metabolism and porphyrias / S. Thunell // *Clin. Lab. Invest.* – 2000. – Vol. 60. – P. 541–560.

213. Tilg, H. Nonalcoholic fatty liver disease; Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance / H. Tilg, C. S. Hotamislidil // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 131, № 3. – P. 934–945.

214. Tung, B. Y. Iron and viral hepatitis / B. Y. Tung, K. V. Kowdley // *Viral Hepat.* – 1999. – Vol. 5, № 1. – P. 63–76.

215. Variant adiponutrin (PNPLA3) represents a common fibrosis risk gene: noninvasive elastography-based study in chronic liver disease / M. Krawczyk [et al.] // *J. Hepatol.* – 2011. – Vol. 7. – P. e1001324.

216. Vernon, G. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults / G. Vernon, A. Baranova, Z. M. Younossi // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34. – P. 274–285.

217. Villanova, N. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease / N. Villanova, S. Moscatiello, S. Ramilli // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 42. – P. 473–480.

218. Vuppalanchi, R. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management / R. Vuppalanchi, N. Chalasani // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 49. – P. 306–317.

219. Williams, C. D. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy / C. D. Williams, J. Stengel, M. I. Asike // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 140. – P. 124–131.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 2.1.1 – Дизайн исследования.....	С. 35
2. Рисунок 3.4.1 – Повышение δ -АЛК и ПБГ у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой.....	С. 64
3. Рисунок 3.4.2 – Нарушение соотношений фракций порфиринов у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой.....	С. 65
4. Рисунок 3.4.3 – Соотношение фракций порфиринов при биохимическом синдроме копропорфирурии у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой.....	С. 66
5. Рисунок 3.4.4 – Соотношение фракций порфиринов при УП-урии у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой.....	С. 66
6. Рисунок 3.4.5 – Соотношение фракций порфиринов при биохимическом синдроме ХЛПП у пациентов с НАЖБП в сравнении с контрольной группой.....	С. 67
7. Таблица 2.5.2.1 – Нормальное содержание предшественников и фракций порфиринов в моче в норме.....	С. 49
8. Таблица 3.1.1 – Частота носительства аллелей 282Y и 63D гена HFE у обследованных пациентов.....	С. 55
9. Таблица 3.2.1 – Состояние липидного обмена у пациентов НАЖБП	С. 57
10. Таблица 3.2.2 – Состояние липидного обмена у пациентов НАЖБП в зависимости от варианта мутации гена HFE.....	С. 58
11. Таблица 3.3.1 – Состояние углеводного обмена у пациентов с НАЖБП.....	С. 60
12. Таблица 3.4.1 – Состояние порфиринового обмена у пациентов с НАЖБП.....	С. 63
13. Таблица 3.4.2 – Экскреция порфиринов с мочой у обследованных больных НАЖБП ($M \pm m$).....	С. 68

14. Таблица 3.4.3 – Сравнительная оценка показателей порфиринового у больных с наличием и отсутствием мутаций гена HFE (M ± m)..... С. 70
15. Таблица 3.6.1 – Показатели функции печени у больных с наличием и отсутствием мутаций гена HFE (M ± m)..... С. 73

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Модифицированный тест
«СЕТКА LEGO»

Признаки:

- 1) ожирение;
- 2) увеличение околоушных желез;
- 3) обложенный язык;
- 4) наличие татуировки;
- 5) контрактура дюпюитрена;
- 6) венозное полнокровие конъюнктивы;
- 7) гиперемия лица с расширением сети кожных капилляров;
- 8) гепатомегалия;
- 9) телеангиоэктазия;
- 10) пальмарная эритема дефицит массы тела;
- 11) транзиторная артериальная гипертония;
- 12) тремор;
- 13) полинейропатия;
- 14) мышечная атрофия;
- 15) гипергидроз;
- 16) гинекомастия;
- 17) следы травм, ожогов, костных переломов, отморожений.

Критерии оценки:

модифицированный тест «Сетка Lego» оценивается следующим образом: один, реже два или три признака можно обнаружить у непьющих или малопьющих людей; 7 и более признаков свидетельствует в пользу регулярного употребления алкоголя.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б**(справочное)****Анкета ПАС (постинтоксикационный алкогольный синдром)***Симптомы:*

- 1) беспокойство и возбуждение;
- 2) бледность (холодная, влажная кожа);
- 3) боль в области сердца;
- 4) гиперемия (чрезмерное покраснение) лица;
- 5) головная боль;
- 6) головокружение;
- 7) дрожание пальцев рук;
- 8) желание принять алкоголь;
- 9) желтушность кожных покровов;
- 10) изменение чувствительности кожи (повышение, снижение);
- 11) нарушение стула (понос, запор);
- 12) недомогание и утомляемость;
- 13) нервное напряжение;
- 14) носовые кровотечения;
- 15) обморочные состояния;
- 16) одышка;
- 17) отеки на ногах;
- 18) отечность лица;
- 19) отсутствие аппетита;
- 20) ощущение сердцебиения;
- 21) перебои в работе сердца;
- 22) повышенное отделение слюны;
- 23) потребность закурить;

- 24) потребность принять лекарство;
- 25) провалы в памяти о происходившем накануне;
- 26) раздражительность и озлобление;
- 27) рвота и понос;
- 28) рвота кровавая;
- 29) снижение полового влечения;
- 30) сухость во рту;
- 31) сыпь на коже;
- 32) чрезмерный аппетит;
- 33) чрезмерная жажда;
- 34) чрезмерная потливость (ночные поты);
- 35) шатающаяся походка.

Из совокупности перечисленных симптомов отметьте те, которые Вы замечаете или ощущаете на следующий день после употребления напитков, содержащих алкоголь. Наличие таковых отметьте знаком (+), а отсутствие – знаком (-). В случае неуверенности оставьте графу свободной. Отвечать на вопросы следует самостоятельно, не советуясь с другими лицами.

Критерии оценки:

Анкета ПАС оценивается следующим образом: 15 и более положительных ответов предполагают высоковероятное, длительное и регулярное употребление алкоголя в опасных для здоровья дозах.

ПРИЛОЖЕНИЕ В**(справочное)****Опросник CAGE**

Вопросы: (Congress on Alcohol and Health, 1994)

1) Возникало ли у Вас ощущение, что Вам следует сократить употребление спиртных напитков?

Да Нет

2) Возникало ли у Вас раздражение, если кто-то из окружающих (друзья, родственники) говорил Вам о необходимости сократить употребление спиртных напитков?

Да Нет

3) Испытывали ли Вы чувство вины, связанное с употреблением спиртных напитков?

Да Нет

4) Трудно ли Вам проснуться на следующий день после приема алкоголя, и возникало ли у Вас желание принять спиртное, как только Вы просыпались после имевшего место употребления алкогольных напитков?

5) Да Нет

Критерии оценки:

Тест CAGE оценивается следующим образом:

1) положительные ответы на 2 вопроса считаются позитивным тестом, что свидетельствует о скрытой алкогольной зависимости;

2) положительные ответы на 3 вопроса позволяют предполагать систематическое употребление алкоголя;

3) положительные ответы на 4 вопроса указывают на систематическое употребление алкоголя, приближающееся к зависимости (алкоголизму).

ПРИЛОЖЕНИЕ Г**(справочное)****Вопросник AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test – тест, идентифицирующий расстройства, связанные с употреблением алкоголя)***Вопросы:*

1) Как часто вы пьете напитки, содержащие алкоголь?

- (0) никогда;
- (1) раз в месяц или реже;
- (2) 2–4 раза в месяц;
- (3) 3–4 раза в неделю;
- (4) 4 раза в неделю и более.

2) Сколько напитка, содержащего алкоголь, вы потребляете обычно в день, когда вы пьете? (обозначьте количество стандартных доз):

- (0) 1 или 2;
- (1) 3 или 4;
- (2) 5 или 6;
- (3) 7 или 8;
- (4) 10 и более.

3) Как часто вы выпиваете 6 доз или более за один раз?

- (0) никогда;
- (1) менее раза в месяц;
- (2) ежемесячно;
- (3) еженедельно;
- (4) ежедневно или почти ежедневно.

4) Сколько раз за прошедший год вы обнаруживали, что не можете прекратить пить, если уже начали?

- (0) никогда;
- (1) менее раза в месяц;
- (2) ежемесячно;
- (3) еженедельно;
- (4) ежедневно или почти ежедневно.

5) Сколько раз за прошедший год вы не могли выполнить то, что обычно должны делать, из-за выпивки?

- (0) никогда;
- (1) менее раза в месяц;
- (2) ежемесячно;
- (3) еженедельно;
- (4) ежедневно или почти ежедневно.

6) Сколько раз за прошедший год вам нужно было выпить с утра, чтобы заставить себя делать что-то после крупной выпивки вчера?

- (0) никогда;
- (1) менее раза в месяц;
- (2) ежемесячно;
- (3) еженедельно;
- (4) ежедневно или почти ежедневно.

7) Сколько раз за прошедший год вы ощущали чувство вины или угрызения совести после выпивки?

- (0) никогда;
- (1) менее раза в месяц;
- (2) ежемесячно;
- (3) еженедельно;

(4) ежедневно или почти ежедневно.

8) Сколько раз за прошедший год вы не могли вспомнить, что было вчера, из-за того, что были пьяны?

(0) никогда;

(1) менее раза в месяц;

(2) ежемесячно;

(3) еженедельно;

(4) ежедневно или почти ежедневно.

9) Случались ли у вас или у кого-то другого травмы из-за вашего употребления спиртного?

(0) нет;

(2) да, но не в прошлом году;

(4) да, в прошлом году.

10) Выражал ли кто-либо из ваших родственников, врач или другие медработники озабоченность по поводу вашей выпивки, предлагали ли вам сократить потребление алкоголя?

(0) нет;

(2) да, но не в прошлом году;

(4) да, в прошлом году.

Критерии оценки:

Рекомендованный пороговый бал 8. Лица с балом более 15 отвечают критериям имеющейся в настоящее время алкогольной зависимости.