

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / ORIGINAL ARTICLES

DOI: 10.52727/2078-256X-2025-21-1-6-22

Профиль жирных кислот мембран эритроцитов, сыворотки крови пациентов со стеатозом и стеатогепатитом при жировой болезни печени различного генеза**М.В. Кручинина^{1,2}, Р.А. Букарев¹, М.В. Паруликова¹, А.А. Громов¹**

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Аннотация

Цель исследования – изучить возможности использования жирных кислот (ЖК) мембран эритроцитов и сыворотки крови для дифференцирования стеатоза и стеатогепатита у пациентов с жировой болезнью печени (ЖБП) различного генеза. **Материал и методы.** Обследованы 84 мужчины с ЖБП различного генеза (алкогольный, неалкогольный, смешанный, т.е. алкогольный + метаболический), средний возраст $48,4 \pm 13,9$ года, степень фиброза 0-1 (FibroScan® 502 Echosens, Франция). С помощью сывороточных тестов NashTest, AshTest в составе FibroMax, ActiTest в составе FibroTest (BioPredictive, Франция) у 44 пациентов установлена минимальная некровоспалительная активность в ткани печени (стеатоз), у 40 – выраженная (рассматривали как стеатогепатит). Исследование ЖК состава мембран эритроцитов, сыворотки крови проведено с помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии – системы на основе трех квадруполов Agilent 7000V (США). **Результаты.** Установлены ЖК мембран эритроцитов, значимые для дифференцирования стеатогепатита и стеатоза у пациентов с ЖБП различного генеза: уровень докозатетраеновой C22:4n-6 ($p = 0,0001$), арахидиновой C20:0 ($p = 0,034$) оказались значимо выше, а содержание пентадекановой C15:0 ($p = 0,0006$), 7-пальмитоленовой C16:1;7 ($p = 0,0093$), миристиновой C14:0 ($p = 0,025$), эйкозапентаеновой C20:5n-3 ($p = 0,032$), гексадекадиеновой C16:2 n-6 ($p = 0,042$) – ниже при стеатогепатите, чем у пациентов со стеатозом печени. Наибольшим потенциалом в различении степени некровоспалительной активности в печени обладала пентадекановая кислота C15:0 – AUC 0,736 (95 % ДИ 0,63–0,843), чувствительность 68,3%, специфичность 75,9 %. Созданная диагностическая панель из комбинации ЖК мембран эритроцитов (C15:0, C14:0, C16:1;7) показала наибольшую чувствительность – 76,5 % при невысокой специфичности 67,1 %. **Заключение.** Выявленные особенности профиля жирных кислот мембран эритроцитов, сыворотки крови следует рассматривать как перспективные биомаркеры для выявления стеатогепатита с точки зрения дальнейших исследований в данном направлении.

Ключевые слова: жировая болезнь печени, генез, некровоспалительная активность, стеатогепатит, жирные кислоты, мембраны эритроцитов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена по Государственному заданию в рамках бюджетных тем FWNR-2024-0004, FWNR-2023-0003.

Автор для переписки: Кручинина М.В., e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Для цитирования: Кручинина М.В., Букарев Р.А., Паруликова М.В., Громов А.А. Профиль жирных кислот мембран эритроцитов, сыворотки крови пациентов со стеатозом и стеатогепатитом при жировой болезни печени различного генеза

титом при жировой болезни печени различного генеза. *Атеросклероз*, 2025; 21 (1): 6–22. doi: 10.52727/2078-256X-2025-21-1-6-22

Profile of fatty acids of erythrocyte membranes, blood serum of patients with steatosis and steatohepatitis in fatty liver disease of various genesis

M.V. Kruchinina^{1,2}, R.A. Bukarev¹, M.V. Parulikova¹, A.A. Gromov¹

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

² *Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
“Novosibirsk State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation
52, Krasny ave., Novosibirsk, 630091, Russia*

Abstract

The aim of the study is to investigate the possibilities of using fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum to differentiate steatosis and steatohepatitis in patients with fatty liver disease (FLD) of various origins. **Material and methods.** The study included 84 men with FLD of various origins (alcoholic, non-alcoholic, mixed, i.e. alcoholic + metabolic), average age 48.4 ± 13.9 years, fibrosis degree 0-1 (FibroScan® 502 Echosens, France). Using serum tests NashTest, AshTest as part of FibroMax, ActiTest as part of FibroTest (BioPredictive, France), 44 patients showed minimal necroinflammatory activity in the liver tissue (steatosis), and 40 patients showed pronounced necroinflammatory activity (considered as steatohepatitis). The study of the composition of fatty acids of erythrocyte membrane, blood serum was carried out using gas chromatography/mass spectrometry – a system based on three Agilent 7000B quadrupoles (USA). **Results.** Fatty acids of erythrocyte membranes, significant for differentiation of steatohepatitis and steatosis in patients with FLD of various genesis, were established: levels of docosatetraenoic C22:4n-6 ($p = 0.0001$), arachidic C20:0 ($p = 0.034$) were significantly higher, and the content of pentadecanoic C15:0 ($p=0.0006$), 7-palmitoleic C16:1;7 ($p = 0.0093$), myristic C14:0 ($p = 0.025$), eicosapentaenoic C20:5n-3 ($p = 0.032$), hexadecadienoic acid C16:2 n-6 ($p = 0.042$) – lower in steatohepatitis than those in patients with liver steatosis. The greatest potential in distinguishing the degree of necroinflammatory activity in the liver was demonstrated by pentadecanoic acid C15:0 – AUC 0.736 (95 % CI 0.63–0.843), sensitivity 68.3 %, specificity 75.9 %. The created diagnostic panel of a combination of erythrocyte membrane fatty acids (C15:0, C14:0, C16:1;7) showed the highest sensitivity – 76.5 % with low specificity of 67.1 %. **Conclusions.** The identified features of the fatty acid profile of erythrocyte membranes and blood serum should be considered as promising biomarkers for the detection of steatohepatitis from the point of view of further research in this area.

Keywords: fatty liver disease, genesis, necroinflammatory activity, steatohepatitis, fatty acids, erythrocyte membranes.

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

Funding. The work was carried out under the State assignment within the framework of budget topics FWNR-2024-0004, FWNR-2023-0003.

Correspondence: Kruchinina M.V., e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Citation: Kruchinina M.V., Bukarev R.A., Parulikova M.V., Gromov A.A. Profile of fatty acids of erythrocyte membranes, blood serum of patients with steatosis and steatohepatitis in fatty liver disease of various genesis. *Atherosclerosis*, 2025; 21 (1): 6–22. doi: 10.52727/2078-256X-2024-21-1-6-22

Введение

Жировая болезнь печени (ЖБП) – распространенное заболевание, характеризующееся избыточным отложением жира в печени. Термин «стеатотическая или стеатозная болезнь печени», предложенный в 2023 г., является «зонтичным»,

объединяющим патологии с разными этиологическими факторами развития стеатоза (кардио-метаболические, алкоголь, вирусы гепатита и другие) [1]. В соответствии с новой классификацией, адаптированной в России, «метаболически ассоциированная жировая болезнь печени»

соответствует термину «неалкогольная жировая болезнь печени» (НАЖБП) [2]. При сочетании метаболической дисфункции с потреблением алкоголя в дозах, больших, чем допустимо при НАЖБП, диагностируют «метаболически ассоциированную жировую болезнь печени в сочетании с избыточным употреблением алкоголя» [2], которую можно рассматривать как жировую болезнь печени смешанного генеза (метаболический + алкогольный). Алкогольный генез ЖБП подразумевает систематическое потребление алкоголя в высоких дозах [1]. ЖБП охватывает спектр нарушений печени, начиная от избыточного накопления жира в органе (простой стеатоз) до стеатогепатита, отличающегося наличием гибели гепатоцитов и воспаления и тесно связанного с развитием запущенных заболеваний печени, таких как фиброз, цирроз и даже гепатоцеллюлярная карцинома [3, 4]. Показано, что неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) может быть связан с резистентностью к инсулину, что вызывает чрезмерный липолиз в жировой ткани. В результате повышается уровень свободных жирных кислот (ЖК) в сыворотке и триацилглицеридов в печени [5].

В ряде исследований показаны ассоциации стеатогепатита с повышенным риском развития сердечно-сосудистой смертности [6], сахарного диабета 2 типа [7], хронической болезни почек, онкологических заболеваний [8], прогрессированием атеросклероза [9]. ЖБП и атеросклероз рассматриваются как хронические воспалительные заболевания с метаболической дисфункцией, оба тесно связаны с дефектным липидным обменом и воспалением. Кроме того, ЖБП и атеросклероз ассоциированы с ожирением [10], сахарным диабетом [11] и дислипидемией [12]. Вероятно, совпадение ряда патогенетических механизмов развития и прогрессирования данных расстройств [13].

В клинической практике диагностические усилия направлены на выявление стеатогепатита в связи с необходимостью терапии до развития продвинутого фиброза печени и осложнений со стороны других органов и систем [14].

«Золотым стандартом» диагностики НАСГ является гистопатологический анализ биоптата печени, однако биопсия является инвазивной процедурой, сопряженной с вероятностью осложнений, возможностью «ошибки взятия образца», потребностью в квалифицированных морфологах, поэтому ее применение ограничено [15].

Количество специфических неинвазивных диагностических тестов на выявление стеатогепатита весьма ограничено. Уровень сывороточных трансаминаз (аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза) указывает только на

повреждение гепатоцитов, но они недостаточно чувствительны и специфичны, чтобы служить надежным неинвазивным тестом некровоспалительных изменений у пациентов с ЖБП [16]. В качестве суррогатных маркеров стеатогепатита используются сывороточные тесты ActiTest в составе FibroTest, NashTest, AshTest в составе FibroMax [17], которые предполагают наличие информации об этиологии заболевания (алкогольная, неалкогольная).

Показано, что тесты, определяющие уровень адипокинов (например, адипонектина), гепатокинов (FGF21) или САР некоторых провоспалительных цитокинов, обладают большей чувствительностью для прогнозирования статуса НАЖБП, хотя имеющиеся данные все еще ограничены и требуют дальнейшей проверки перед их внедрением в клинических лабораториях [18, 19]. Другим потенциальным биомаркером является цитокератин – 18 (СК-18), фрагменты которого высвобождаются в кровотоке в результате гибели гепатоцитов; определение СК-18 показало многообещающие результаты для различения стеатоза и стеатогепатита, но оно требует дальнейшей проверки на более крупных когортах пациентов [18].

В последние годы обсуждалось использование диагностических панелей, включающих клинические признаки, полиморфизмы генов PNPLA3/NV6SF2 [20].

В настоящее время количественная оценка стеатоза печени может быть выполнена несколькими визуализирующими методами: параметр контролируемого затухания (САР, controlled attenuation parameter) – это метод, доступный в системе FibroScan (Echosens, Париж, Франция) [21], компьютерная томография или магнитно-резонансная томография [22]. Но эти подходы не позволяют отличить стеатоз от стеатогепатита.

Появляющиеся новые данные предполагают потенциальное использование метаболомных подходов для поиска новых неинвазивных биомаркеров ЖБП [23]. Уровень ЖК в плазме у пациентов с НАЖБП оценивался в нескольких липидомных исследованиях [24–27]. В целом, не существует линейной корреляции между уровнем ЖК в печени и крови, но содержание ЖК сыворотки может отражать метаболические изменения в клетках печени [25, 27].

ЖК являются компонентами почти каждой существующей липидной структуры. В организме человека ЖК могут присутствовать в автономной (свободные ЖК) и этерифицированной форме, например, в триглицеридах и фосфолипидах. Функции ЖК многообразны, начиная от формирования и стабилизации внутри- и внеклеточных мембран, модуляции сигнальных пу-

лей клеток, выступая как источники энергии, предшественники биоактивных молекул, заканчивая регуляцией экспрессии генов [5, 28].

Поэтому ЖК сыворотки крови, мембран эритроцитов могут быть исследованы как потенциальные биомаркеры для различения стеатоза и стеатогепатита при жировой болезни печени.

Цель исследования: изучить возможности использования ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови для дифференцирования стеатоза и стеатогепатита у пациентов с жировой болезнью печени различного генеза.

Материал и методы

Обследованы 84 мужчины с ЖБП различного генеза (алкогольный, неалкогольный, смешанный, т.е. алкогольный+метаболический), средний возраст $48,4 \pm 13,9$ года. Жировая болезнь печени диагностирована с помощью ультразвукового исследования органов брюшной полости в соответствии с УЗИ-критериями патологии [29]. Диагноз был подтвержден значениями индекса стеатоза печени FLI (Fatty liver index), превышающими 60.

Согласно МКБ-10 в работе использован термин «алкогольная болезнь печени», что соответствовало кодам K70.0 Алкогольная жировая дистрофия печени (стеатоз) и K70.1 Алкогольный гепатит. Термин «неалкогольная жировая болезнь печени» (НАЖБП) соответствовал коду K76.0 – жировая дегенерация печени, не классифицированная в других рубриках [29].

Критериями установления диагноза НАЖБП, согласно Российским клиническим рекомендациям, считали подтверждение стеатоза печени с наличием воспаления или без него и исключение других причин развития стеатоза печени [29]. Диагноз НАЖБП был подтвержден вычислением индекса NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease) liver fat score со значениями, превышающими $-0,64$ [28]. Пациенты эпизодически (1–4 раза в год) потребляли низкие дозы алкоголя, в среднем ($15,8 \pm 3,9$) г в сутки в пересчете на чистый этанол, или не потребляли спиртные напитки вообще. Данные опросников AUDIT (Alcohol Use Disorders Inventory Test), CAGE (Cut, Annoyed, Guilty, Eye-opener), биохимические показатели позволили исключить алкогольную этиологию ЖБП.

Алкогольный генез ЖБП устанавливался по данным подтвержденного систематического потребления алкоголя в настоящее время и в анамнезе (по данным стандартного опроса, в том числе с помощью CAGE-опросника, AU-

DIT более 8 баллов, при обнаружении стигм алкогольного поражения печени, повышении активности гамма-глутамилтранспептидазы, коэффициента де Ритиса более 1 (соотношение активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы) в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями «Алкогольная болезнь печени у взрослых» [30]. Согласно новой классификации ЖБП, при установлении алкогольного генеза ЖБП учитывалась разовая доза потребляемого алкоголя в пересчете на чистый этанол (> 60 г) и недельная (> 420 г) [1].

Смешанная этиология (метаболическая + алкогольная) диагностировалась в случае регулярного потребления алкоголя пациентами с проявлениями метаболического синдрома согласно Рекомендациям экспертов ВНОК [30]. У пациентов данной группы разовая и недельная дозы этанола не превышали 60 и 420 г соответственно [1].

У больных с НАЖБП и ЖБП смешанного генеза выявлены проявления метаболического синдрома – в качестве основного критерия – абдоминальный тип ожирения; как дополнительные критерии – артериальная гипертензия, дислипидемия, гипергликемия. Достоверным метаболический синдром считали при наличии трех критериев – одного основного и двух дополнительных [31].

В процессе обследования у пациентов с ЖБП были исключены хронические вирусные гепатиты, ассоциированные с ЖБП генетические заболевания: болезнь Вильсона–Коновалова (исследован уровень церулоплазмينا крови), врожденная недостаточность альфа1-антитрипсина (при наличии показаний количественно определен альфа1-антитрипсин), гемохроматоз (ферритин сыворотки, процент насыщения трансферрина, при синдроме перегрузки железом наличие мутаций в гене *HFE* (в локусах 187 C > G (H63D) и 845 G > A (C282Y)). Определение антител ANA, SMA и AT-LKM-1 дало возможность исключить аутоиммунный гепатит. Подробное изучение лекарственного анамнеза обеспечило исключение лекарственного гепатита. У пациентов не было длительного (более двух недель) парентерального питания, голодания как возможных причин развития ЖБП.

У пациентов с ЖБП была определена степень некрвоспалительной активности по данным сывороточных тестов NashTest, AshTest в составе FibroMax у пациентов с неалкогольной и алкогольной ЖБП; ActiTest в составе FibroTest (BioPredictive, Франция) у пациентов с ЖБП смешанного генеза. Несмотря на то что эти

тесты имеют ограничения по диагностической точности, в ряде исследований показана возможность использования, в частности ActiTest, для неинвазивного определения степени воспалительной активности при НАЖБП [17, 32]. Поскольку стеатогепатит в отличие от стеатоза печени обычно характеризуется не только накоплением липидов, но и баллонной дистрофией гепатоцитов и лобулярным воспалением [8], использование вышеуказанных тестов, косвенно оценивающих некровоспаление в печени с градацией по степени, представляется вполне уместным.

У пациентов с НАЖБП некровоспалительная активность оценена с помощью алгоритма NashTest, значения N0-1 (0–0,5) расценивались как минимальная, N2 (0,75 и более) – как активная. У мужчин с алкогольной жировой болезнью печени (АЖБП) был использован алгоритм AshTest, значения теста N0-1 (0–0,54) считали минимальной, N2-3 (0,55–1) – выраженной активностью. При смешанном генезе ЖБП применен ActiTest, значения теста A0-1 (0–0,36) рассматривали как минимальную, A 2-3 (0,53 и более) – как выраженную некровоспалительную активность в печени. В соответствии с данными тестов у 44 пациентов установлена минимальная некровоспалительная активность, которую рассматривали как пациентов со стеатозом печени; у 40 пациентов – выраженная активность – пациенты со стеатогепатитом. В группе со стеатозом печени оказалось 11 пациентов с АЖБП (25 %), 10 мужчин с НАЖБП (22,7 %) и 23 пациента с ЖБП смешанного генеза (52,3 %). В группу со стеатогепатитом включены 12 пациентов с АЖБП (30 %), 10 – с НАЖБП (25 %) и 18 человек со смешанным генезом заболевания (45 %). Таким образом, в обеих группах преобладали пациенты с ЖБП смешанного генеза.

Обследование пациентов с ЖБП включало сбор анамнеза, клинико-лабораторные и инструментальные исследования для оценки состояния заболевания по клиническим показаниям. У всех обследованных методом непрямой эластометрии на аппарате FibroScan® 502 (Echosens, Франция) [21] определена степень выраженности фиброза печени, которая не превышала первую.

Исследование состава ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови проведено с помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии с использованием системы на основе трех квадрупольных Agilent 7000B (США). Для получения взвеси эритроцитов пробирки с антикоагулянтом центрифугировали при 2000 об./мин в течение 20 мин и удаляли плазму. Полученные эритроциты отмывали фосфатным буфером, со-

держащим 0,103М Na_2HPO_4 и 0,155М KH_2PO_4 , рН 7,36, без добавления комплексообразующих соединений с трехкратным центрифугированием со скоростью 2000 об./мин при температуре 2–3 °С в течение 20 мин. Мембраны эритроцитов получали путем гемолиза клеток дистиллированной водой. К 0,5 мл взвеси отмытых эритроцитов добавляли 1,5 мл дистиллированной воды, тщательно встряхивали и центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 10000 об./мин. После удаления супернатанта процедуры добавления дистиллированной воды и центрифугирования повторяли. Образцы мембран эритроцитов экстрагировали смесью хлороформ : метанол (2:1) 1 мл. Далее проводилась переэтерификация – добавлялся 0,5 мл 0,5М раствор КОН в метаноле. После окончания реакции проводили двукратную экстракцию полученных эфиров *n*-гексаном по 0,5 мл. Экстракт переносили в стеклянные виалы и отдували сухим азотом до объема 50 мкл. Полученные образцы использовали для анализа ЖК. Концентрации ЖК выражали в относительных процентах. Предел обнаружения ЖК ~ 1 мкг на образец [33]. Кроме содержания отдельных ЖК определяли суммарное содержание насыщенных ЖК (НЖК), ненасыщенных ЖК, полиненасыщенных ЖК (ПНЖК), омега-3 ПНЖК, омега-6 ПНЖК, их соотношения.

При статистической обработке данных определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартное квадратичное отклонение ($M \pm SD$). При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался *t*-тест Стьюдента. При отсутствии нормального распределения вычислялись медиана (Me), 25 и 75 % процентиля (25 %, 75 %) (Me [25 %; 75 %]), достоверность различий показателей оценивали с помощью непараметрических критериев (*U*-критерий Манна – Уитни, χ^2). Для оценки статистической значимости различий относительных показателей использован критерий χ^2 Пирсона. Для определения потенциальных биомаркеров стеатогепатита проведена процедура нормализации концентрации ЖК по медиане с последующим применением методов непарной статистики с использованием Volcano plot и дискриминантного анализа на основе ортогональных наименьших квадратов (Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis, OPLS-DA). Оценка диагностической точности произведена с помощью ROC-анализа. Рассчитана чувствительность, специфичность и площадь под ROC-кривой (AUC). Использовалось программное обеспечение MATLAB

(R2019a, MathWorks) [34]. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05.

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБНУ «НИИ терапии и профилактической медицины» (протокол № 122 от 29.11.2016). Все обследованные дали информированное согласие на участие в работе в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003.

Результаты

Пациенты со стеатозом и стеатогепатитом оказались сопоставимы по возрасту, этиологии ЖБП, показателям липидного профиля, пуринового обмена. Вместе с тем в группе со стеатогепатитом были статистически значимо выше показатели синдрома цитолиза (трансаминазы, билирубин, сывороточное железо) ($p = 0,0005-0,029$), маркеры воспаления (фибриноген, С-реактивный белок, ферритин) ($p = 0,00007-0,041$). Индекс Саго со значениями менее 0,33 свидетельствовал о наличии инсулинорезистентности у большей части пациентов обеих групп. Индекс NAFLD liver fat score не различался в обеих группах, поскольку в обеих группах преобладали пациенты с метаболическим синдромом.

Клинико-биохимические показатели пациентов исследуемых групп со стеатогепатитом и стеатозом представлены в табл. 1.

У пациентов обеих групп со стеатозом и стеатогепатитом исследовали показатели общего анализа крови, красной крови и ряд индексов эритроцитов. При наличии тенденции к более низким уровням количества эритроцитов, гемоглобина и более высокой СОЭ у пациентов с выраженной некрвоспалительной активностью в печени статистически значимых различий между группами не обнаружено.

Первый этап статистической обработки предполагал выполнение процедуры нормализации уровня ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови (рис. 1).

Дискриминантный анализ выявил перечень ЖК мембран эритроцитов, различающихся в группах пациентов с ЖБП с разной некрвоспалительной активностью (рис. 2).

С помощью тепловой карты иерархической кластеризации уровня ЖК (построена по медиане концентраций ЖК, центрирование по среднему значению) визуализированы различия в «паттернах» ЖК между пациентами с разной степенью некрвоспалительной активности (рис. 3).

На рис. 4 представлен график со степенью вклада уровня отдельных ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови в различие пациентов со стеатозом и стеатогепатитом. По данным рисунка наиболее высока значимость для различения групп пациентов с А0-1 и А2-3 омега-6 ПНЖК (С22:4n-6, С20:4n-6), насыщенных ЖК (С14:0, С15:0), мононенасыщенных ЖК (С16:1;7, С16:1;9), а также соотношения омега-6/омега-3 ПНЖК.

Исследование методом Volcano-plot дало возможность выявить ЖК мембран эритроцитов, дифференцирующих пациентов со стеатогепатитом и стеатозом с наибольшей точностью (табл. 2). Различия концентрации ЖК сыворотки оказались ниже уровня статистической значимости.

ЖК мембран эритроцитов – потенциальные биомаркеры для дифференцирования стеатогепатита и стеатоза у пациентов с ЖБП различного генеза см. в табл. 2.

Уровни докозатетраеновой С22:4n-6 ($p = 0,0001$) и арахидиновой С20:0 ($p = 0,034$) кислот оказались статистически значимо выше при стеатогепатите, а содержание пентадекановой С15:0 ($p = 0,0006$), 7-пальмитолеиновой С16:1;7 ($p = 0,0093$), миристиновой С14:0 ($p = 0,025$), эйкозапентаеновой С20:5n-3 ($p = 0,032$), гексадекадиеновой С16:2 n-6 ($p = 0,042$) кислот – ниже при выраженной некрвоспалительной активности, чем у пациентов со стеатозом печени.

Тепловая карта корреляций уровней ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови между собой представлена на рис. 5. Так, пентадекановая кислота мембран эритроцитов (С15:0) прямо с высокой силой связи ($r > 0,5$) ассоциирована с уровнем ряда насыщенных ЖК мембран эритроцитов (С12:0, С14:0) и сыворотки крови (С15:0, С17:0); суммарным содержанием мононенасыщенных ЖК как в мембранах эритроцитов, так и в сыворотке крови, а также уровнем отдельных мононенасыщенных ЖК – С16:1;7, С16:1;9, с-С18:1; уровнем одной омега-6 ПНЖК – С16:2n-6. Напротив, обратные корреляции средней силы связи ($r > 0,5$) выявлены между уровнем данной кислоты С15:0 и перечнем других НЖК (С18:0, С20:0), омега-6 ПНЖК (С20:2n-6, С20:3n-6, С20:4n-6, С22:4n-6) как в мембранах клеток, так и в сыворотке кро-

Таблица 1

Клинико-биохимические показатели у пациентов с ЖБП с разной степенью некрвоспалительной активности ($M \pm SD$)

Table 1

Clinical and biochemical parameters in patients with fatty liver disease (FLD) with different degrees of necroinflammatory activity ($M \pm SD$)

Показатель / Indicator	Группа пациентов со стеатогепатитом, $n = 40$ / Group of patients with steatohepatitis, $n = 40$	Группа пациентов со стеатозом, $n = 44$ / Group of patients with steatosis, $n = 44$	p
Возраст, лет / Age, years	48,9 ± 12,6	47,8 ± 15,2	0,719
Эластичность печени, кПа / Liver elasticity, kPa	6,18 ± 18,7	5,57 ± 10,2	0,856
Индекс NAFLD liver fat score / Index NAFLD liver fat score	2,98 ± 2,8	3,42 ± 2,1	0,432
Окружность талии, см / Waist circumference, cm	107,9 ± 11,9	110,7 ± 17,9	0,398
Индекс массы тела, кг/м ² / Body mass index, kg/m ²	32,8 ± 5,3	33,9 ± 6,0	0,379
Содержание триглицеридов, ммоль/л / Triglyceride content, mmol/l	2,57 ± 0,9	2,44 ± 0,89	0,506
Содержание общего холестерина, ммоль/л / Total cholesterol content, mmol/l	6,5 ± 1,29	6,39 ± 1,46	0,718
Содержание холестерина липопротеинов высокой плотности, ммоль/л / High-density lipoprotein cholesterol content, mmol/l	0,95 ± 0,32	0,96 ± 0,36	0,917
Содержание холестерина липопротеинов низкой плотности, ммоль/л / Low-density lipoprotein cholesterol content, mmol/l	4,67 ± 1,12	4,47 ± 1,35	0,453
Содержание глюкозы крови натощак, ммоль/л / Fasting blood glucose, mmol/l	6,95 ± 4,2	6,82 ± 4,1	0,873
Содержание инсулина сыворотки, мкЕд/мл / Serum insulin content, μU/ml	34,1 ± 17,6	33,82 ± 16,5	0,940
Индекс Caro / Index Caro	0,23 ± 0,5	0,24 ± 0,59	0,934
Содержание общего белка, г/л / Total protein content, g/l	72,5 ± 4,6	71,4 ± 4,6	0,257
Содержание альбумина, г/л / Albumin content, g/l	44,8 ± 4,1	45,6 ± 3,38	0,340
Активность АСТ, Ед/л / AST activity, U/L	60,4 ± 47,2	21,7 ± 50,4	0,0008
Активность АЛТ, Ед/л / ALT activity, U/L	54,9 ± 38,4	19,8 ± 50,3	0,0005
Коэффициент де Ритиса (АСТ/АЛТ) / de Ritis coefficient (AST/ALT)	1,06 ± 0,31	0,98 ± 0,26	0,215
Активность щелочной фосфатазы, Ед/л / Alkaline phosphatase activity, U/L	157,3 ± 52,9	145,2 ± 47,7	0,277
Активность гамма-глутамилтранспептидазы, Ед/л / Gamma-glutamyl transpeptidase activity, U/L	42,4 ± 23,9	38,6 ± 27,8	0,504
Содержание железа в сыворотке, мкмоль/л / Serum iron content, μmol/l	24,8 ± 11,1	15,9 ± 12,0	0,0007
Содержание общего билирубина, мкмоль/л / Total bilirubin content, μmol/l	32,4 ± 37,6	15,7 ± 30,6	0,029
Содержание прямого билирубина, мкмоль/л / Direct bilirubin content, μmol/l	7,54 ± 7,8	3,25 ± 6,1	0,007
Содержание фибриногена, г/л / Fibrinogen content, g/l	4,59 ± 5,7	2,29 ± 4,2	0,041
Содержание С-реактивного белка, мг/л / C-reactive protein content, mg/l	5,78 ± 5,9	2,33 ± 5,7	0,008
Содержание ферритина, мкг/л / Ferritin content, mcg/l	337,7 ± 133,5	187,8 ± 191,6	0,00007

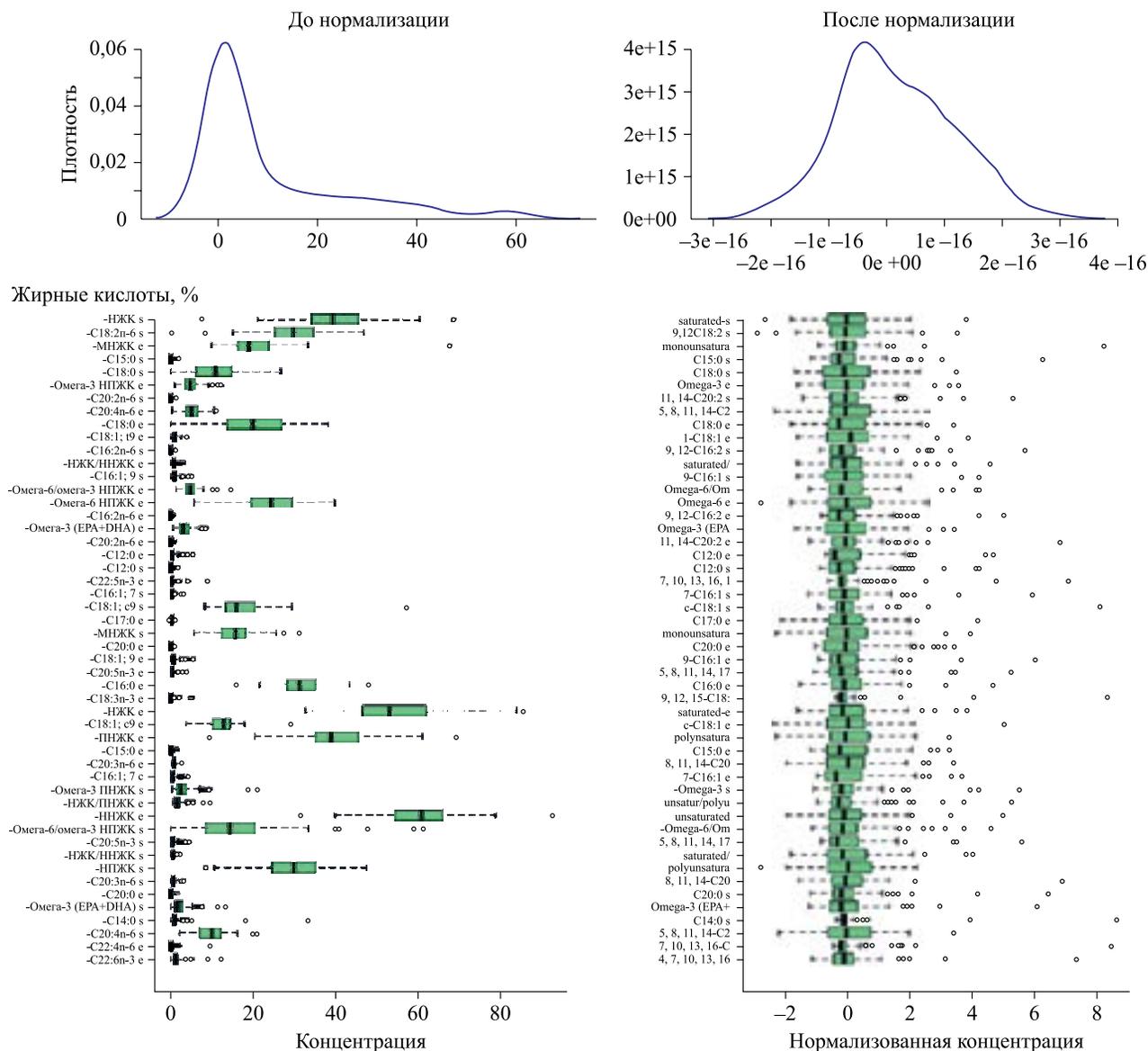


Рис. 1. Нормализация уровня ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови пациентов с ЖБП с разной некровоспалительной активностью

Fig. 1. Normalization of fatty acid (FA) level in erythrocyte membranes and blood serum of patients with fatty liver disease with different necroinflammatory activity

ви; омега-3 ПНЖК (суммарного содержания, C22:6n-3, C20:5n-3+ C22:6n-3) в сыворотке крови.

Использование ROC-анализа продемонстрировало возможности как отдельных ЖК, так и их комбинации в различении пациентов со стеатогепатитом и стеатозом (рис. 6). Эритроцитарные ЖК обеспечили следующий уровень диагностической точности при дифференцировании пациентов с разной степенью некротического воспаления: пентадекановая кислота C15:0 – AUC 0,736 (95 % ДИ 0,63–

0,843), чувствительность 68,3 %, специфичность 75,9 %; докозатетраеновая кислота C22:4n-6 – AUC 0,691 (95 % ДИ 0,596–0,792), чувствительность 70,7 %, специфичность 64,8 %; миристиновая C14:0 – AUC 0,711 (95 % ДИ 0,6–0,806), чувствительность 65,9 %, специфичность 72,2 %; 7-пальмитолеиновая C16:1:7 – AUC 0,715 (95 % ДИ 0,609–0,807), чувствительность 68,3 %, специфичность 68,5 % (рис. 6, а–г). На рис. 6, д представлены варианты моделей, включающих разное число ЖК (от 3 до 62), которые

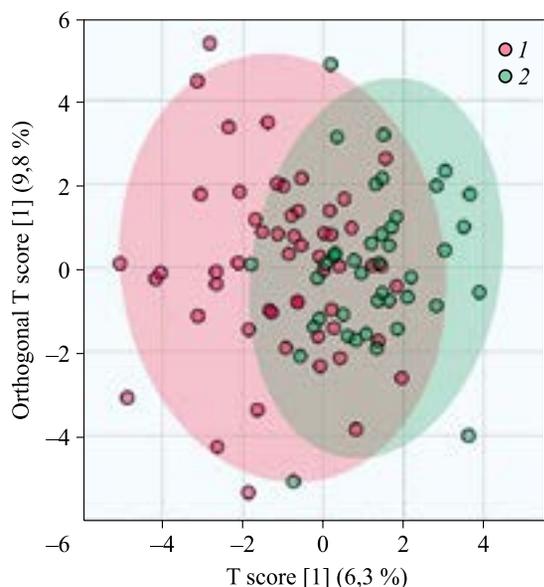


Рис. 2. Дискриминантный ортогональный анализ методом частных наименьших квадратов (ortoPLSDA) у пациентов с ЖБП с разным уровнем некрвоспалительной активности: 1 – минимальная некрвоспалительная активность – А0-1; 2 – выраженная некрвоспалительная активность – А2-3

Fig. 2. Orthogonal partial least squares discriminant analysis (ortoPLSDA) in patients with FLD with different levels of necroinflammatory activity: 1 – minimal necroinflammatory activity – А0-1; 2 – pronounced necroinflammatory activity – А2-3

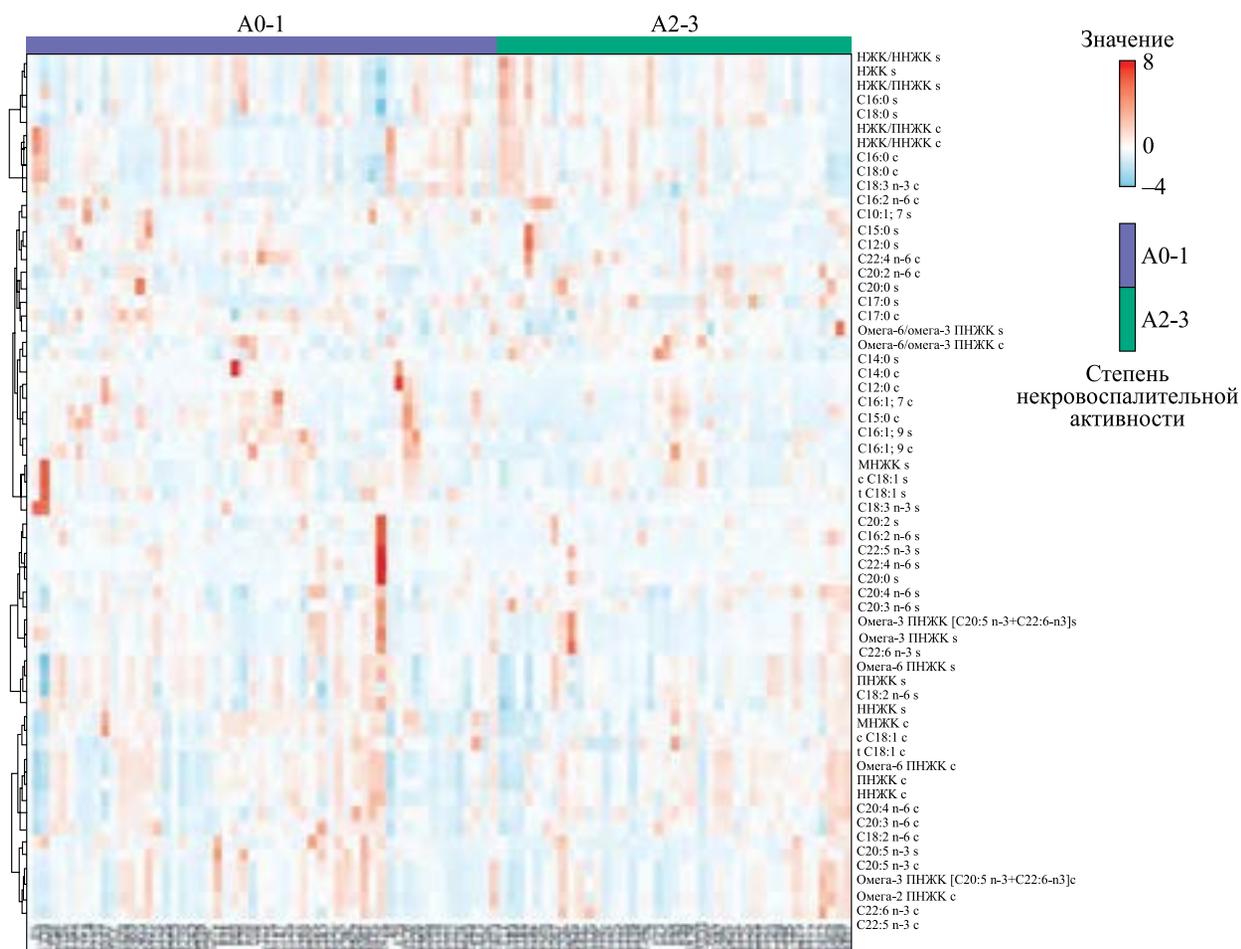


Рис. 3. Тепловая карта иерархической кластеризации уровня ЖК у пациентов с разной степенью некрвоспалительной активности

Fig. 3. Heat map of hierarchical clustering of FA level in patients with different degrees of necroinflammatory activity

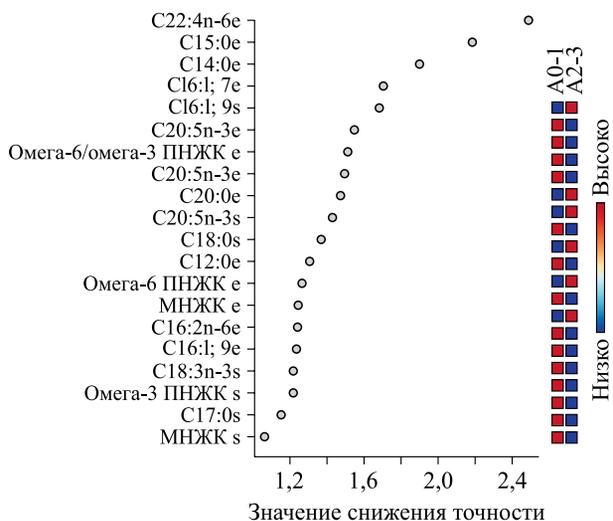


Рис. 4. Ранжирование ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови по их степени вклада в различие пациентов с минимальной и выраженной некрвоспалительной активностью

Fig. 4. Ranking of FA of erythrocyte membranes and blood serum according to their degree of contribution to distinguishing patients with minimal and pronounced necroinflammatory activity

Обсуждение

В настоящей работе был проанализирован уровень ЖК сыворотки крови и мембран эритроцитов, но только последние оказались значимыми для дифференцирования выраженности некрвоспалительной активности у пациентов с ЖБП. Вероятно, это связано с большим влиянием диеты на метаболиты сыворотки, в то же время, более стабильным ЖК профилем мембран эритроцитов, в большей степени отражающим имеющуюся патологию печени.

К настоящему времени липидный ландшафт ЖБП недостаточно хорошо определен. Анализ изменений в гепатическом и плазменном липидном гомеостазе у пациентов с ЖБП может предоставить существенные доказательства участия липидов, включая ЖК, в патогенезе стеатоза и стеатогепатоза [35]. Считается, что повышенный уровень циркулирующих свободных ЖК может быть основной причиной

имели AUC от 0,638 до 0,718, но не показали достаточный уровень диагностической точности при высокой затратности. Модель, состоящая из уровней трех ЖК мембран эритроцитов – C15:0, C14:0, C16:1;7, при минимальном перечне составляющих показала наибольшую чувствительность – 76,5 % при невысокой специфичности – 67,1 % (AUC 0,668 (95 % ДИ 0,541–0,8).

Таблица 2

ЖК мембран эритроцитов – потенциальные биомаркеры для различения стеатогепатита и стеатоза у пациентов с ЖБП (данные получены при использовании Volcano plot, непарная статистика)

Table 2

FA of erythrocyte membranes are potential biomarkers for distinguishing steatohepatitis and steatosis in patients with alcoholic FLD (data obtained using Volcano plot, unpaired statistics)

ЖК / FA	Кратность изменений / Frequency of changes (FC)	log2(FC)	p	-log10 (p)
Докозатетраеновая кислота C22:4n-6 / Docosatetraenoic acid C22:4n-6	1,4701	0,55593	0,000104	3,9817
Пентадекановая кислота C15:0 / Pentadecanoic acid C15:0	0,55805	-0,84153	0,000604	3,2188
7-Пальмитолеиновая кислота C16:1;7 / 7-Palmitoleic acid C16:1;7	0,56735	-0,8177	0,00934	2,0297
Миристиновая кислота C14:0 / Myristic acid C14:0	0,51927	-0,94543	0,025685	1,5903
Эйкозопентаеновая кислота C20:5n-3 / Eicosapentaenoic acid C20:5n-3	0,68004	-0,55631	0,03284	1,4836
Арахидиновая кислота C20:0 / Arachidic acid C20:0	1,4931	0,57833	0,034653	1,4603
Гексадекадиеновая кислота C16:2n-6 / Hexadecadienoic acid C16:2 n-6	0,60669	-0,72097	0,042487	1,3717

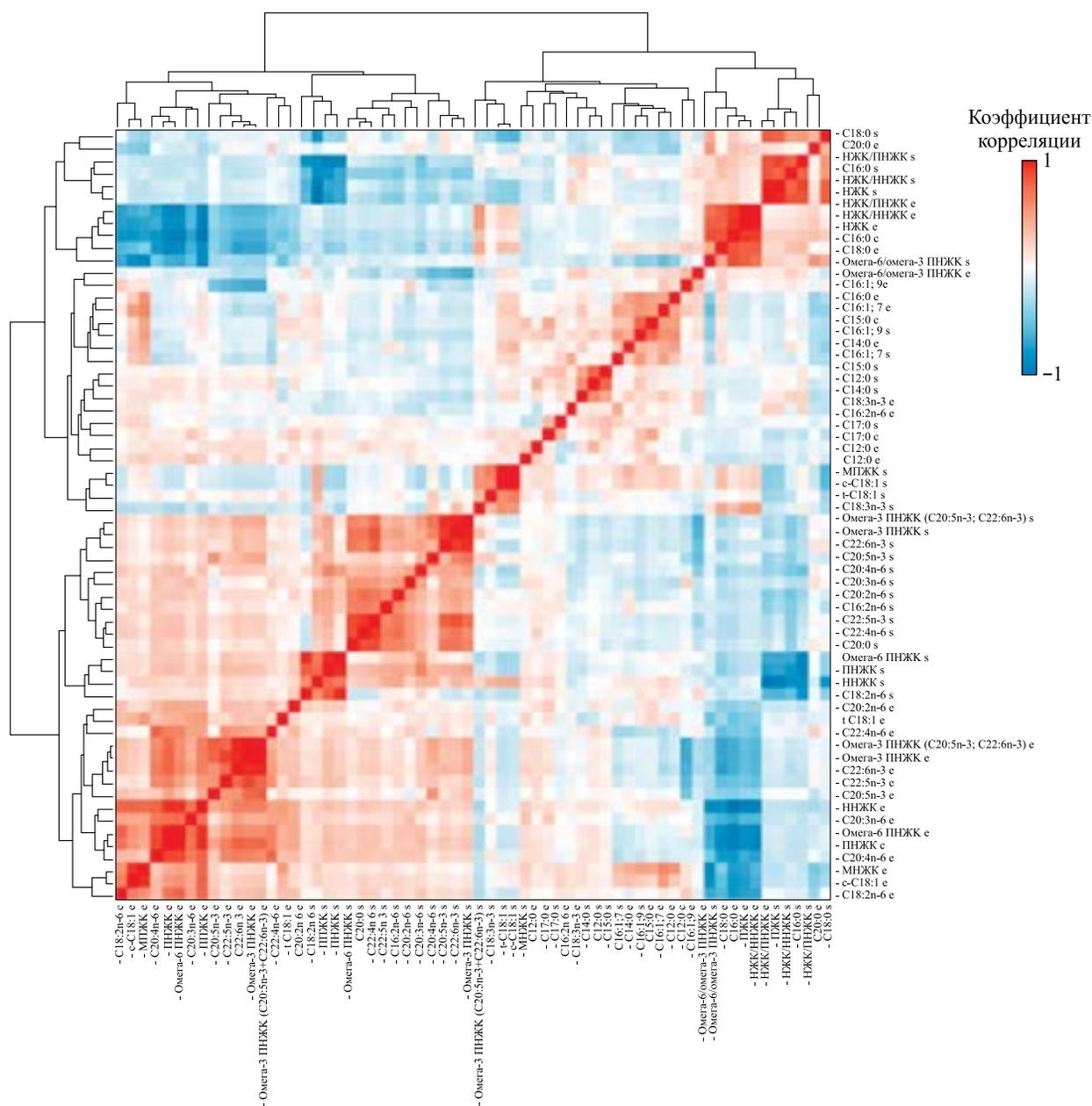


Рис. 5. Тепловая карта корреляций уровня ЖК мембран эритроцитов и сыворотки крови между собой у пациентов с разной степенью некрвоспалительной активности при ЖБП

Fig. 5. A heat map of correlations of FA levels of erythrocyte membranes and blood serum among themselves in patients with varying degrees of necroinflammatory activity in FLD

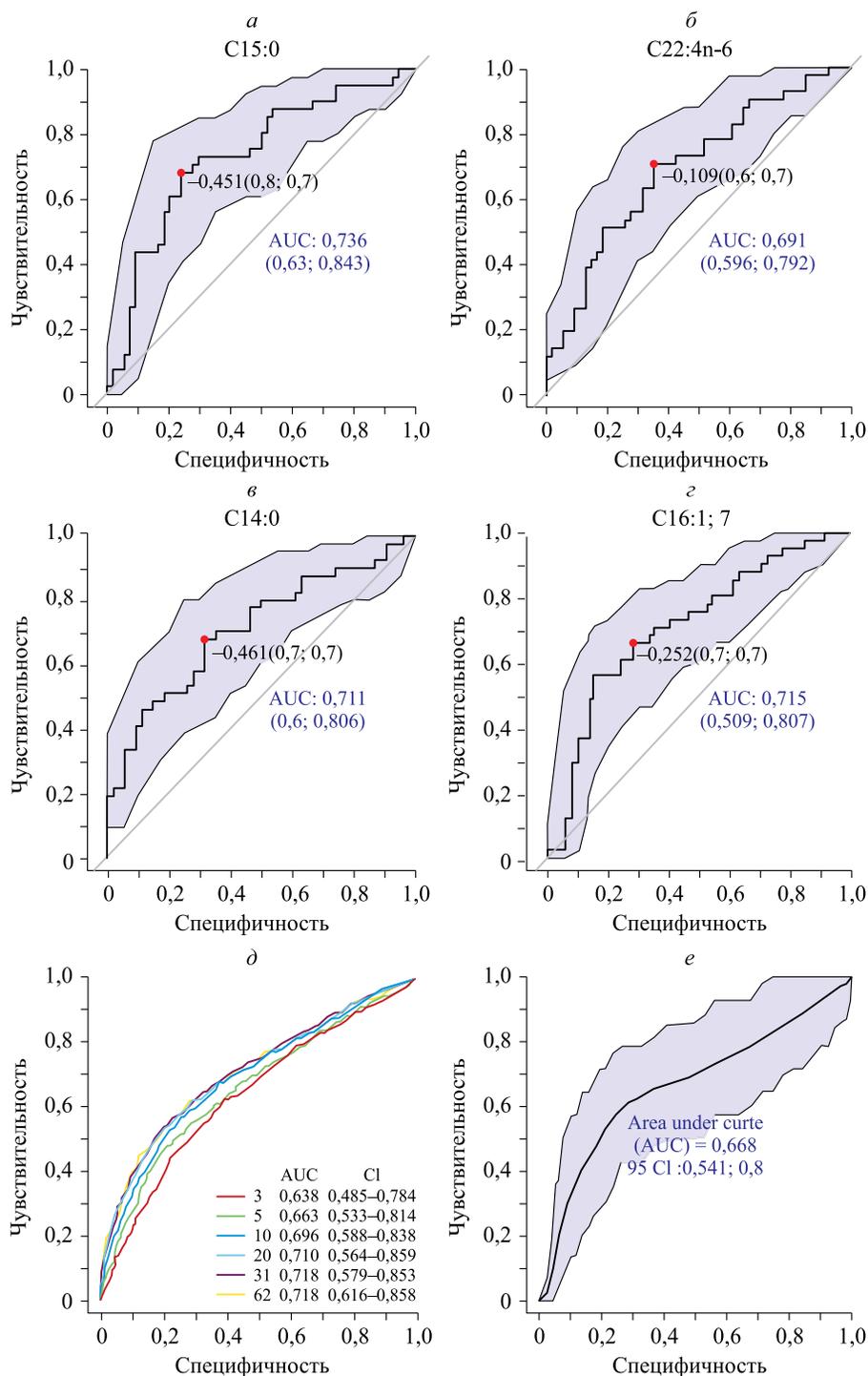


Рис. 6. ROC-кривые с использованием уровней отдельных ЖК мембран эритроцитов и их комбинации для различения стеатогепатита и стеатоза у пациентов с ЖБП: *а* – пентадекановая кислота C15:0 – AUC 0,736 (95 % ДИ 0,63–0,843); *б* – докозатетраеновая кислота C22:4n-6 – AUC 0,691 (95 % ДИ 0,596–0,792); *в* – миристиновая кислота C14:0 – AUC 0,711 (95 % ДИ 0,6–0,806); *г* – 7-пальмитолеиновая кислота C16:1;7 – AUC 0,715 (95 % ДИ 0,609–0,807); *д* – варианты комбинированных моделей с AUC от 0,638 до 0,718; *е* – комбинированная модель, состоящая из C15:0, C14:0, C16:1;7 (AUC 0,668 (95 % ДИ 0,541–0,8)

Fig. 6. ROC curves using the levels of individual erythrocyte membrane FA and their combination to distinguish steatohepatitis and steatosis in patients with FLD: *a* – pentadecanoic acid C15:0 – AUC 0.736 (95 % CI 0.63–0.843); *b* – docosatetraenoic acid C22:4n-6 – AUC 0.691 (95 % CI 0.596–0.792); *c* – myristic acid C14:0 – AUC 0.711 (95 % CI 0.6–0.806); *d* – 7-palmitoleic acid C16:1;7 – AUC 0.715 (95 % CI 0.609–0.807); *e* – variants of combined models with AUC from 0.638 to 0.718; *e* – a combined model consisting of C15:0, C14:0, C16:1;7 (AUC 0.668 (95 % CI 0.541–0.8))

липотоксичности печени и сопутствующего повреждения гепатоцитов, развития их баллонной дистрофии [36].

В 2017 г. R. Feng et al. предложили панель сывороточных свободных ЖК для ранней диагностики НАСГ [37]. Интересно, что у пациентов с НАЖБП были более высокие концентрации сывороточных свободных ЖК всех классов, и не было существенных различий между суммарным уровнем свободных ЖК у худых или полных пациентов с НАЖБП [38]. Исследователи подчеркнули потенциальное использование липидов 14:0 и 16:1 в качестве возможных биомаркеров для ранней диагностики НАСГ.

Показано, что влияние различных классов ЖК на некровоспаление в ткани печени существенно различалось [5].

В нашей работе выявлен повышенный уровень насыщенной арахидиновой кислоты мембран эритроцитов (C20:0) у пациентов со стеатогепатитом, уровень двух других насыщенных ЖК C15:0 и C14:0 оказался ниже у пациентов с выраженной некровоспалительной активностью. Это, возможно, связано с разной ролью НЖК в патогенезе ЖБП. Так, в эксперименте на животных была показана протективная роль пентадекановой C15:0 и маргариновой C17:0 ЖК в отношении развития баллонной дистрофии гепатоцитов и их повреждения при НАСГ у мышей [39]. Миристиновая кислота C14:0 может расходоваться в процессе ацилирования белков, значимых для перечня сигнальных путей, в том числе провоспалительных [40].

По данным литературных источников, повреждение печени было приписано токсическим эффектам накопления НЖК (особенно пальмитиновой 16:0) в этом органе. Показано, что соотношения конкретных ЖК зависят не только от диеты и липогенеза *de novo*, но также от пола и возраста. Так, K. Yamada et al. сообщили, что у мужчин наблюдались более значительные изменения при сравнении пациентов с стеатозом и стеатогепатитом, чем у женщин в постменопаузе [38]. Повышенный уровень печеночных НЖК были зарегистрированы у пациентов обоего пола с НАЖБП [41]. В исследованиях *in vitro* было показано, что НЖК вызывают синтез провоспалительных цитокинов, что приводит

к апоптозу и нарушению структуры сигнальных зон инсулина [42]. Избыточное накопление НЖК (особенно C16:0, C18:0, C20:0) в гепатоцитах способно вызывать стресс эндоплазматического ретикулума [43] и может представлять собой основную причину повреждения гепатоцитов. Кроме того, животные модели НАЖБП показали более высокие концентрации НЖК в печени по сравнению с контрольной группой, эта разница в большей степени обусловлена значительным увеличением уровня миристиновой (14:0), пальмитиновой (16:0) и стеариновой (18:0) кислот [35]. Подобная картина увеличения НЖК наблюдалась в исследовании, проведенном у пациентов с НАЖБП [44]. Напротив, другое липидное исследование печени человека показало незначительную тенденцию к более высокой концентрации НЖК, со значительным увеличением только уровня 16:0 среди различных видов ЖК, включенных в анализ [45]. В частности, высокое содержание 16:0 и измененный баланс между 18:0 и 16:0 были связаны с баллонированием гепатоцитов у пациентов, страдающих стеатогепатитом [38].

В настоящем исследовании выявлен сниженный уровень мононенасыщенной 7-пальмитолеиновой кислоты мембран эритроцитов C16:1;7, что, возможно, обусловлено ее избыточным расходом в связи с подавлением сигнальных путей PI3K/Akt, регулирующих эпителиально-мезенхимальный переход, или дальнейшим превращением в полиненасыщенные ЖК в связи с высокой активностью стеарил-КоА десатуразы-1 (SCD1) и липогенеза *de novo* [46].

По данным ряда исследований обнаружен повышенный уровень мононенасыщенных ЖК (пальмитолеиновой кислоты (16:1 n7) и олеиновой кислоты (18:1 n9) в диацилглицеридах, триглицеридах и фосфолипидах образцов ткани печени человека [44, 45] и мышей [35] при НАЖБП. Интересно, что повышенные соотношения 16:1 n7/16:0 и 18:1 n9/18:0 были зарегистрированы у пациентов с НАСГ [38, 44, 45], что предполагает повышение активности стеарил-КоА-десатуразы SCD1 при стеатогепатите [35, 38, 45].

ПНЖК проявляют различную биологическую активность в зависимости от расположения двойных связей. Так, омега-3 ПНЖК могут приводить к разным биологическим эффектам, поскольку они способны изменять состав плазматических мембран, а также модулировать экспрессию генов и определенные сигнальные пути клеток [47]. Омега-3 ПНЖК также играют важную защитную роль при хронических заболеваниях, включая сердечно-сосудистые заболевания, атеросклероз, диабет 2 типа и даже рак [47]. Омега-3 ПНЖК являются предшественниками различных липидных медиаторов с противовоспалительным потенциалом, таких как эйкозаноиды, резолвины и протектины [47]. Кроме того, омега-3 ПНЖК считаются ключевыми факторами в профилактике некоторых нежелательных реакций организма, таких как аутоиммунный ответ [47]. Напротив, провоспалительные оксипирины, включая эйкозаноиды, в основном являются производными омега-6 ПНЖК [47].

Выявленный в нашей работе повышенный уровень омега-6 полиненасыщенной докозатетраеновой С22:4n-6, вероятно, ассоциирован с потенциалом метаболизма данной кислоты в провоспалительные простагландины, лейкотриены, тромбоксаны, а сниженная концентрация гексадекадиеновой кислоты С16:2 n-6 обусловлена ее расходом на синтез ЖК с более длинной цепью [47]. Сниженное содержание омега-3 ПНЖК – эйкозапентаеновой, установлено при наличии высокой некровоспалительной активности при ЖБП, вероятно, из-за низкого уровня ее противовоспалительных производных.

Исследования липидома выявили прогрессирующее снижение печеночных ПНЖК параллельно нарастанию тяжести НАСГ [44, 45]. Показано, что молярные проценты как омега-3, так и омега-6 ПНЖК были снижены в биоптатах печени пациентов с НАЖБП [45], в то же время во фракции триглицеридов было значительно снижено только содержание омега-3 ПНЖК. Соответственно, соотношение омега-6/омега-3 ПНЖК оказалось повышенным в ткани печени пациентов со стеатозом печени и стеатогепатитом. Напротив, в ткани печени мышей при экспериментальной НАЖБП это отношение было снижено [35, 38, 45]. Эти расхождения между данными, полученными на людях, и исследованиями на экспериментальных животных с НАЖБП предполагают, что последние могут быть неподходящей моделью для изучения метаболизма ПНЖК при НАЖБП человека. F. Chiappini et al., L.V. Herrera-Marcos et al. выявили значительно сниженный уровень эйкоза-

пентаеновой кислоты (С20:5 n-3) и докозатетраеновой кислоты (С22:6 n-3) при стеатогепатите [44, 45], что согласуется с результатами нашей работы. Кроме того, наблюдалось значительное истощение гамма-линоленовой (С18:3 n-6) и арахидоновой (С20:4 n-6) кислот, что может указывать на их чрезмерное использование для синтеза воспалительных производных, значимых в патогенезе НАСГ [44]. Важно отметить, что омега-3 ПНЖК являются предшественниками клеточных фосфолипидов, что может частично объяснить более низкие количества фосфолипидов, наблюдаемые у пациентов с НАСГ [44].

Заключение

Таким образом, установлены ЖК мембран эритроцитов, значимые для дифференцирования стеатогепатита и стеатоза у пациентов с ЖБП различного генеза: уровень докозатетраеновой С22:4n-6 ($p = 0,0001$) и арахидоновой С20:0 ($p = 0,034$) кислот оказались статистически значимо выше, а содержание пентадекановой С15:0 ($p = 0,0006$), 7-пальмитоолеиновой С16:1;7 ($p = 0,0093$), миристиновой С14:0 ($p = 0,025$), эйкозапентаеновой С20:5n-3 ($p = 0,032$), гексадекадиеновой С16:2 n-6 ($p = 0,042$) кислот – ниже при стеатогепатите, чем у пациентов со стеатозом печени. Наибольшим потенциалом в различении степени некровоспалительной активности в печени обладала пентадекановая кислота С15:0 – AUC 0,736 (95 % ДИ 0,63–0,843), чувствительность 68,3 %, специфичность 75,9 %. Созданная диагностическая панель из комбинации ЖК мембран эритроцитов (С15:0, С14:0, С16:1;7) показала наибольшую чувствительность – 76,5 % при невысокой специфичности – 67,1 %.

Выявленные особенности профиля жирных кислот мембран эритроцитов, сыворотки крови следует рассматривать как перспективные биомаркеры для выявления стеатогепатита с точки зрения дальнейших исследований в данном направлении.

Список литературы / References

1. Rinella M.E., Lazarus J.V., Ratziu V., Francque S.M., Sanyal A.J., Kanwal F., Romero D., Abdelmalek M.F., Anstee Q.M., Arab J.P., Arrese M., Bataller R., Beuers U., Boursier J., Bugianesi E., Byrne C.D., Castro Narro G.E., Chowdhury A., Cortez-Pinto H., Cryer D.R., Cusi K., El-Kassas M., Klein S., Eskridge W., Fan J., Gawrieh S., Guy C.D., Harrison S.A., Kim S.U., Koot B.G., Korenjak M., Kowd-

- ley K.V., Lacaille F., Loomba R., Mitchell-Thain R., Morgan T.R., Powell E.E., Roden M., Romero-Gomez M., Silva M., Singh S.P., Sookoian S.C., Spearman C.W., Tiniakos D., Valenti L., Vos M.B., Wong V.W., Xanthakos S., Yilmaz Y., Younossi Z., Hobbs A., Villota-Rivas M., Newsome P.N.; NAFLD Nomenclature consensus group. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology*, 2023; 78 (6): 1966–1986. doi: 10.1097/HEP.0000000000000520
2. Райхельсон К.Л., Маевская М.В., Жаркова М.С., Гречишников В.Р., Оковитый С.В., Деева Т.А., Марченко Н.В., Прашнова М.К., Ивашкин В.Т. Жировая болезнь печени: новая номенклатура и ее адаптация в Российской Федерации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*, 2024; 34 (2): 35–44. doi: 10.22416/1382-4376-2024-961 [Raikhelson K.L., Maevskaya M.V., Zharkova M.S., Grechishnikova V.R., Okovityi S.V., Deeva T.A., Marchenko N.V., Prashnova M.K., Ivashkin V.T. Steatotic liver disease: new nomenclature and its localization in the Russian Federation. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2024; 34 (2): 35–44. (In Russ.)]. doi: 10.22416/1382-4376-2024-961
 3. Loomba R., Friedman S.L., Shulman G.I. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*, 2021; 184 (10): 2537–2564. doi: 10.1016/j.cell.2021.04.015
 4. Elsaid M.I., Bridges J.F.P., Li N., Rustgi V.K. Metabolic syndrome severity predicts mortality in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastro. Hep. Adv.*, 2022; 1 (3): 445–456. doi: 10.1016/j.gastha.2022.02.002
 5. Hliwa A., Ramos-Molina B., Laski D., Mika A., Sledzinski T. The role of fatty acids in non-alcoholic fatty liver disease progression: an update. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021; 22 (13): 6900. doi: 10.3390/ijms22136900
 6. Shroff H., VanWagner L.B. Cardiovascular disease in nonalcoholic steatohepatitis: screening and management. *Curr. Hepatol. Rep.*, 2020; 19 (3): 315–326. doi: 10.1007/s11901-020-00530-0
 7. Dharmalingam M., Yamasandhi P.G. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus. *Indian J. Endocrinol. Metab.*, 2018; 22 (3): 421–428. doi: 10.4103/ijem.IJEM_585_17
 8. Tapper E.B., Fleming C., Rendon A., Fernandes J., Johansen P., Augusto M., Nair S. The burden of nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review of epidemiology studies. *Gastro. Hep. Adv.*, 2022; 1 (6): 1049–1087. doi: 10.1016/j.gastha.2022.06.016
 9. Galatou E., Mourelatou E., Hatziantoniou S., Vizirianakis I.S. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and atherosclerosis: explaining their pathophysiology, association and the role of incretin-based drugs. *Antioxidants (Basel)*, 2022; 11 (6): 1060. doi: 10.3390/antiox11061060
 10. Dağ H., İncirkuş F., Dikker O. Atherogenic Index of Plasma (AIP) and its association with fatty liver in obese adolescents. *Children (Basel)*, 2023; 10 (4): 641. doi: 10.3390/children10040641
 11. Avanaki F.A., Esteghamati A. Atherogenic index of plasma is an independent predictor of metabolic-associated fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Eur. J. Med. Res.*, 2022; 27 (1): 112. doi: 10.1186/s40001-022-00731-x
 12. Liu J., Zhou L., An Y., Wang Y., Wang G. The atherogenic index of plasma: A novel factor more closely related to non-alcoholic fatty liver disease than other lipid parameters in adults. *Front. Nutr.*, 2022; 9: 954219. doi: 10.3389/fnut.2022.954219
 13. Balta S. Atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver disease. *Angiology*, 2022; 73 (8): 701–711. doi: 10.1177/00033197221091317
 14. Wei S., Wang L., Evans P.C., Xu S. NAFLD and NASH: etiology, targets and emerging therapies. *Drug Discov. Today*, 2024; 29 (3): 103910. doi: 10.1016/j.drudis.2024.103910
 15. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. *J. Hepatol.*, 2021; 75 (3): 659–689. doi: 10.1016/j.jhep.2021.05.025
 16. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E., Charlton M., Cusi K., Rinella M., Harrison S.A., Brunt E.M., Sanyal A.J. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 2018; 67 (1): 328–357. doi: 10.1002/hep.29367
 17. Chen Z., Ma Y., Cai J., Sun M., Zeng L., Wu F., Zhang Y., Hu M. Serum biomarkers for liver fibrosis. *Clin. Chim. Acta*, 2022; 537: 16–25. doi: 10.1016/j.cca.2022.09.022
 18. Long M.T., Gandhi S., Loomba R. Advances in non-invasive biomarkers for the diagnosis and monitoring of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 2020; 111: 154259. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154259
 19. Wong V.W.S., Adams L.A., de Lédinghen V., Wong G.L.H., Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH – current progress and future promise. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2018; 15: 461–478. doi: 10.1038/s41575-018-0014-9
 20. Yuan L., Terrault N.A. PNPLA3 and nonalcoholic fatty liver disease: towards personalized medicine for fatty liver. *Hepatobiliary Surg. Nutr.*, 2020; 9 (3): 353–356. doi: 10.21037/hbsn.2019.10.35
 21. Ferraioli G., Monteiro L.B.S. Ultrasound-based techniques for the diagnosis of liver steatosis. *World J. Gastroenterol.*, 2019; 25: 6053–6062. doi: 10.3748/wjg.v25.i40.6053
 22. Peng C., Stewart A.G., Woodman O.L., Ritchie R.H., Qin C.X. Non-alcoholic steatohepatitis: A review of its mechanism, models and medical treatments. *Front. Pharmacol.*, 2020; 11: 1864. doi: 10.3389/fphar.2020.603926
 23. Masarone M., Troisi J., Aglitti A., Torre P., Colucci A., Dallio M., Federico A., Balsano C., Persico M. Untargeted metabolomics as a diagnostic tool in NAFLD: Discrimination of steatosis, steatohepatitis and cirrhosis. *Metabolomics*, 2021; 17: 12. doi: 10.1007/s11306-020-01756-1
 24. Tavares De Almeida I., Cortez-Pinto H., Fidalgo G., Rodrigues D., Camilo M.E. Plasma total and free fatty acids composition in human non-alcoholic steatohepatitis. *Clin. Nutr.*, 2002; 21: 219–223. doi: 10.1054/clnu.2001.0529

25. Zhou Y., Orešić M., Leivonen M., Gopalacharyulu P., Huysalo J., Arola J., Verrijken A., Francque S., Van Gaal L., Hyötyläinen T., Yki-Järvinen H. Noninvasive detection of nonalcoholic steatohepatitis using clinical markers and circulating levels of lipids and metabolites. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2016; 14 (10): 1463–1472.e6. doi: 10.1016/j.cgh.2016.05.046
26. Feng R., Luo C., Li C., Du S., Okekunle A.P., Li Y., Chen Y., Zi T., Niu Y. Free fatty acids profile among lean, overweight and obese non-alcoholic fatty liver disease patients: A case-Control study. *Lipids Health Dis.*, 2017; 16 (1): 165. doi: 10.1186/s12944-017-0551-1
27. Puri P., Wiest M.M., Cheung O., Mirshahi F., Sargeant C., Min H.K., Contos M.J., Sterling R.K., Fuchs M., Zhou H., Watkins S.M., Sanyal A.J. The plasma lipidomic signature of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 2009; 50 (6): 1827–1838. doi: 10.1002/hep.23229
28. Calder P.C. Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr.*, 2015; 39 (1 Suppl): 18S–32S. doi: 10.1177/0148607115595980.
29. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Жаркова М.С., Котовская Ю.В., Ткачева О.Н., Трошина Е.А., Шестакова М.В., Маев И.В., Бредер В.В., Гейвандова Н.И., Дошицин В.Л., Дудинская Е.Н., Ершова Е.В., Кодзоева Х.Б., Комшилова К.А., Корочанская Н.В., Майоров А.Ю., Мишина Е.Е., Надинская М.Ю., Никитин И.Г., Погосова Н.В., Тарзиманова А.И., Шамхалова М.Ш. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российской ассоциации эндокринологов, Российской ассоциации геронтологов и гериатров и Национального общества профилактической кардиологии по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*, 2022; 32 (4): 104–140. doi: 10.22416/1382-4376-2022-32-4-104-140 [Ivashkin V.T., Maevskaya M.V., Zharkova M.S., Kotovskaya Yu.V., Tkacheva O.N., Troshina E.A., Shestakova M.V., Maev I.V., Breder V.V., Gheivandova N.I., Doshchitsin V.L., Dudinskaya E.N., Ershova E.V., Kodzoeva Kh.B., Komshilova K.A., Korochanskaya N.V., Mayorov A.Yu., Mishina E.E., Nadinskaya M.Yu., Nikitin I.G., Pogosova N.V., Tarzimanova A.I., Shamkhalova M.Sh. Clinical practice guidelines of the Russian Scientific Liver Society, Russian Gastroenterological Association, Russian Association of Endocrinologists, Russian Association of Gerontologists and Geriatricians and National Society for preventive cardiology on diagnosis and treatment of non-alcoholic liver disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*, 2022; 32 (4): 104–140. (In Russ.)]. doi: 10.22416/1382-4376-2022-32-4-104-140
30. Алкогольная болезнь печени (АБП) у взрослых. Клинические рекомендации. 2021–2022–2023. Режим доступа: http://disuria.ru/_ld/12/1219_kr21K-70MZ.pdf [Alcoholic liver disease (ALD) in adults. Clinical guidelines. 2021–2022–2023. Available at: http://disuria.ru/_ld/12/1219_kr21K70MZ.pdf (In Russ.)].
31. Мычка В.Б., Жернакова Ю.В., Чазова И.Е. Рекомендации экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома (второй пересмотр). *Доктор.Ру*, 2010; 3 (54): 15–18. [Mychka V.B., Zhernakova Yu.V., Chazova I.E. Recommendations of experts from the All-Russian Scientific Society of Cardiologists on the diagnosis and treatment of metabolic syndrome (second revision). *Doctor.Ru*, 2010; 3 (54): 15–18. (In Russ.)].
32. Munteanu M., Tiniakos D., Anstee Q., Charlotte F., Marchesini G., Bugianesi E., Trauner M., Romero Gomez M., Oliveira C., Day C., Dufour J.F., Bellentani S., Ngo Y., Traussnig S., Perazzo H., Deckmyn O., Bedossa P., Ratziu V., Poynard T.; FLIP Consortium and the FibroFrance Group. Diagnostic performance of FibroTest, SteatoTest and ActiTest in patients with NAFLD using the SAF score as histological reference. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2016; 44 (8): 877–889. doi: 10.1111/apt.13770.
33. Кручинина М.В., Кручинин В.Н., Прудникова Я.И., Громов А.А., Шашков М.В., Соколова А.С. Исследование уровня жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком г. Новосибирска. *Успехи молекулярной онкологии*, 2018; 5 (2): 50–61. doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-2-50-61 [Kruchinina M.V., Kruchinin V.N., Prudnikova Ya.I., Gromov A.A., Shashkov M.V., Sokolova A.S. Study of the level of fatty acids in erythrocyte membranes and serum of patients with colorectal cancer in Novosibirsk. *Advances in Molecular Oncology*, 2018; 5 (2): 50–61 (In Russ.)]. doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-2-50-61
34. Breiman L. Random forests. *Machine Learning*, 2001; 45: 5–32. doi: 10.1023/A:1010933404324
35. Wang X., Cao Y., Fu Y., Guo G., Zhang X. Liver fatty acid composition in mice with or without nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.*, 2011; 10: 234. doi: 10.1186/1476-511X-10-234
36. Rada P., González-Rodríguez Á., García-Monzyn C., Valverde Á.M. Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: Is CD36 a key driver? *Cell Death Dis.*, 2020; 11: 1–15. doi: 10.1038/s41419-020-03003-w
37. Feng R., Luo C., Li C., Du S., Okekunle A.P., Li Y., Chen Y., Zi T., Niu Y. Free fatty acids profile among lean, overweight and obese non-alcoholic fatty liver disease patients: A case-Control study. *Lipids Health Dis.*, 2017; 16 (1): 165. doi: 10.1186/s12944-017-0551-1
38. Yamada K., Mizukoshi E., Sunagozaka H., Arai K., Yamashita T., Takeshita Y., Misu H., Takamura T., Kitamura S., Zen Y., Nakanuma Y., Honda M., Kaneko S. Characteristics of hepatic fatty acid compositions in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int.*, 2015; 35 (2): 582–590. doi: 10.1111/liv.12685.
39. Yoo W., Gjuka D., Stevenson H.L., Song X., Shen H., Yoo S.Y., Wang J., Fallon M., Ioannou G.N., Harrison S.A., Beretta L. Fatty acids in non-alcoholic steatohepatitis: Focus on pentadecanoic acid. *PLoS*

- One, 2017; 12 (12): e0189965. doi: 10.1371/journal.pone.0189965
40. Chen J.J., Fan Y., Boehning D. Regulation of dynamic protein s-acylation. *Front. Mol. Biosci.*, 2021; 8: 656440. doi: 10.3389/fmolb.2021.656440
41. Powell E.E. A new treatment and updated clinical practice guidelines for MASLD. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2025; 22 (2): 88–89. doi: 10.1038/s41575-024-01014-y
42. Goldberg I.J., Ginsberg H.N. Ins and outs modulating hepatic triglyceride and development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2006; 130: 1343–1346. doi: 10.1053/j.gastro.2006.02.040
43. Pfaffenbach K.T., Gentile C.L., Nivala A.M., Wang D., Wei Y., Pagliassotti M.J. Linking endoplasmic reticulum stress to cell death in hepatocytes: Roles of C/EBP homologous protein and chemical chaperones in palmitate-mediated cell death. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2010; 298: E1027–E1035. doi: 10.1152/ajpendo.00642.2009
44. Chiappini F., Coilly A., Kadar H., Gual P., Tran A., Desterke C., Samuel D., Duclos-Vallée J.C., Touboul D., Bertrand-Michel J., Brunelle A., Guettier C., Le Naour F. Metabolism dysregulation induces a specific lipid signature of nonalcoholic steatohepatitis in patients. *Sci. Rep.*, 2017; 7: 46658. doi: 10.1038/srep46658
45. Herrera-Marcos L.V., Arbones-Mainar J.M., Osada J. Lipoprotein lipidomics as a frontier in non-alcoholic fatty liver disease biomarker discovery. *Int. J. Mol. Sci.*, 2024; 25 (15): 8285. doi: 10.3390/ijms25158285
46. Syed-Abdul M.M. Lipid metabolism in metabolic-associated steatotic liver disease (MASLD). *Metabolites*, 2023; 14 (1): 12. doi: 10.3390/metabo14010012
47. Czumaj A., Śledziński T. Biological role of unsaturated fatty acid desaturases in health and disease. *Nutrients*, 2020; 12: 356. doi: 10.3390/nu12020356

Сведения об авторах:

Маргарита Витальевна Кручинина, д-р мед. наук, доцент, зав. лабораторией гастроэнтерологии, ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии, проф. кафедры пропедевтики внутренних болезней, Новосибирск, Россия, ORCID: 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Рудольф Александрович Букарев, ординатор лаборатории гастроэнтерологии, Новосибирск, Россия, e-mail: r.bukarev@mail.ru

Марина Владимировна Паруликова, старший преподаватель отдела образования, врач-гастроэнтеролог, Новосибирск, Россия, e-mail: m_parulikova@mail.ru

Андрей Александрович Громов, канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, руководитель Центра профилактики тромбозов, Новосибирск, Россия, ORCID: 0000-0001-9254-4192, e-mail: gromov.center@rambler.ru

Information about the authors:

Margarita V. Kruchinina, doctor of medical sciences, associate professor, head of the gastroenterology laboratory, leading researcher of the gastroenterology laboratory, professor of the department of propaedeutics of internal diseases, Novosibirsk, Russia, ORCID: 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Rudolf A. Bukarev, clinical resident of the laboratory of gastroenterology, Novosibirsk, Russia, e-mail: r.bukarev@mail.ru

Marina V. Parulikova, senior lecturer of the department of education, Novosibirsk, Russia, e-mail: m_parulikova@mail.ru

Andrey A. Gromov, candidate of medical sciences, senior researcher at the laboratory of clinical biochemical and hormonal studies of therapeutic diseases, head of the thrombosis prevention center, Novosibirsk, Russia, ORCID: 0000-0001-9254-4192, e-mail: gromov.center@rambler.ru

Статья поступила 13.01.2025

После доработки 29.01.2025

Принята к печати 27.02.2025

Received 13.01.2025

Revision received 29.01.2025

Accepted 27.02.2025

