

УДК 616

Поступила 08.02.2017

Маркеры печеночно-клеточного повреждения и воспаления при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени

О.П. Дуданова¹, А.А. Шиповская¹, И.В. Курбатова²¹Петрозаводский государственный университет; ²Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

Раннюю форму неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) – стеатоз печени (СП) – рассматривают как благоприятно протекающее поражение печени, редко прогрессирующее в стеатогепатит (СГ) и, тем более, в ЦП. Такая точка зрения обусловлена во многом трудностью верификации слабовыраженного повреждения и воспаления при НАЖБП с помощью традиционных лабораторных тестов и редким использованием в клинической практике биопсии печени. Исследователи, которые использовали повторные биопсии печени, указывают на достаточно высокий уровень трансформации исходного СП в явный стеатогепатит – у 23%–44% пациентов через 3–6 лет (36 месяцев) и у 4% – в цирроз печени через 20 лет [1, 2].

Повреждение печеночной ткани является ключевым триггерным фактором для развития воспаления и прогрессирования СП и происходит оно при НАЖБП под влиянием внутренних и внешних факторов. Внутренний стресс обусловлен избыточным образованием свободных радикалов при дисфункции митохондрий, накоплением липотоксичных соединений, эндоплазматическим стрессом и реакцией несвернутых белков. Внешний фактор обусловлен воздействием ФНО- α , синтезируемого макрофагами висцеральной жировой ткани, купферовскими клетками печени и самими гепатоцитами. Повреждение гепатоцитов в виде некроза традиционно верифицируется по увеличению активности aminотрансфераз, но последние в большинстве случаев бывают нормальными при СП и даже в 40%–50% случаев при СГ [3]. Это создает определенные трудности для диагностики НАЖБП, определения показаний для терапии и для мониторингования течения НАЖБП. Некроз клеток всегда сопровождается выходом содержимого во внеклеточное пространство и развитием воспаления.

Другой вид повреждения гепатоцитов – апоптоз – не выявляется общепринятым в клинической практике способом диагностики и до сих пор остается недостаточно изученным механизмом гибели клеток при НАЖБП. При апоптозе клетка фрагментируется на отдельные тельца, окруженные мембраной, и фагоцитируется макрофагами печени, в результате воспаление не развивается. Но чаще при длительно протекающем апоптозе воспаление все же возникает, так как при структурном преобразовании мембраны клетки во время апоптоза появляются измененные DAMP-белки (damage-associated molecular pattern), которые распознаются Toll-рецепторами клеток врожденного иммунитета, запускающими стерильное воспаление. Кроме того, КК активируются во время фагоцитоза апоптозных телец, выделяя цитокины и хемокины, привлекающие в печень иммунциты, а также фактор роста фибробластов бета, который вызывает пролиферацию ЗК и трансформацию их в миофибробласты. При данной форме гибели клетки внутриклеточные ферменты – АЛАТ и АСАТ – не попадают в кровь, и печеночное повреждение остается неверифициро-

ванным, хотя потеря паренхиматозной ткани печени продолжается, как и слабовыраженное воспаление.

Минимальное воспаление, характерное для НАЖБП, чаще всего не определяется традиционными лабораторными методами, и требуются более чувствительные маркеры воспаления. В литературе имеется обширная информация о роли слабовыраженного воспалительного статуса при неалкогольном стеатогепатите – опубликованы данные об увеличении уровня провоспалительных цитокинов – ФНО- α , ИЛ6, ИЛ-1 ν , ИЛ-17 [4]. Значительно меньше информации о содержании данных цитокинов в крови при СП. То же касается маркера апоптоза гепатоцитов – фрагментов цитокератина-18 (ЦК-18) при СП. Большинство авторов находят увеличенный уровень данного пептида при СГ и предлагают его использование в качестве альтернативы биопсии печени для дифференциальной диагностики СГ и СП [5].

Цель исследования

Целью настоящего исследования явилась оценка диагностической роли маркеров воспаления и апоптоза гепатоцитов при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) – стеатозе печени (СП).

Материалы и методы

Обследованы 42 больных со СП (мужчин 23 (54,8%), женщин 19 (45,2%); возраст $(53,4 \pm 11,1)$ года). Индекс массы тела составил $(31,7 \pm 6,3)$ кг/м², окружность талии – $(115,6 \pm 17,4)$ см. Диагноз СП устанавливался на основании клинических, лабораторных, инструментальных и гистологических данных согласно рекомендациям РГА и НОГР [6, 7]. Определялись следующие лабораторные показатели: гемограмма, уровни аланинаминотрансферазы (АЛАТ), аспартатаминотрансферазы (АСАТ), билирубина, щелочной фосфатазы (ЩФ), альбумина, протромбина, холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов (ТГ), глюкозы. Методом иммуноферментного анализа определялись уровни фрагментов цитокератина-18 (ЦК-18) (тест-система «TPS ELISA», «Biotech», Швеция), опухоленекротического фактора-альфа (ФНО- α) (тест-система «Human TNF α Platinum ELISA», «eBioscience», Австрия), инсулина (тест-система «Insulin TEST System», США). Рассчитывался НОМА-индекс по формуле $\text{инсулин} \times \text{глюкоза} \text{ натощак} / 22$. Гистологическим методом диагноз СП был подтвержден у 6 (14,3%) пациентов. Из исследования исключены пациенты с вирусными, алкогольными, лекарственными и аутоиммунными поражениями печени, а также с хроническими и острыми очагами инфекции, больные с сахарным диабетом 2 типа, получающие инсулиносенситайзеры. Контрольную группу составили 35 здоровых лиц (мужчин 18 (51,4%), женщин 17 (48,6%); возраст $(37,5 \pm 10,4)$ года).

Таблица 1

Лабораторные показатели у больных стеатозом печени с увеличенным (I группа) и нормальным (II группа) уровнем маркера воспаления ФНО- α

Показатель	I группа, n = 26 (61,9%)	II группа, n = 16 (38,1%)	p
ФНО- α , пг/мл	7,0 \pm 1,2	3,9 \pm 1,2	0,0001
ЦК-18, ед./л	139,9 \pm 28,8	117,2 \pm 36,4	0,57
АЛАТ, ед./л	21,4 \pm 6,4	18,0 \pm 6,3	0,04
АСАТ, ед./л	23,6 \pm 5,0	19,7 \pm 5,3	0,05
Щелочная фосфатаза, ед./л	183,2 \pm 52,8	222,9 \pm 86,3	0,20
Холестерин, ммоль/л	5,9 \pm 1,1	5,4 \pm 1,6	0,52
ЛПВП, ммоль/л	1,2 \pm 0,3	1,8 \pm 0,7	0,04
ЛПНП, ммоль/л	3,8 \pm 0,8	3,1 \pm 1,7	0,29
ТГ, ммоль/л	1,8 \pm 0,5	2,3 \pm 1,0	0,35
Глюкоза, ммоль/л	6,4 \pm 2,2	6,1 \pm 1,7	0,70
НОМА-IR	4,2 \pm 2,2	4,6 \pm 2,1	0,59
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	7,2 \pm 3,0	5,6 \pm 1,8	0,01
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	257,2 \pm 88,4	206,0 \pm 43,1	0,02
СОЭ, мм/час	17,3 \pm 7,3	13,3 \pm 4,5	0,40

Таблица 2

Лабораторные показатели у больных стеатозом печени с увеличенным (I группа) и нормальным (II группа) уровнем маркера апоптоза ЦК-18

Показатели	I группа, n = 30 (71,4%)	II группа, n = 12 (28,5%)	p
ЦК-18, ед./л	214,7 \pm 90,2	68,6 \pm 13,2	0,002
ФНО- α , пг/мл	7,2 \pm 0,9	6,3 \pm 1,1	0,05
АЛАТ, ед./л	19,6 \pm 6,7	20,5 \pm 6,8	0,57
АСАТ, ед./л	24,0 \pm 4,3	22,4 \pm 5,0	0,49
ЩФ, ед./л	219,3 \pm 50,2	215,4 \pm 72,3	0,9
Холестерин, ммоль/л	6,1 \pm 0,7	5,2 \pm 0,8	0,04
ЛПВП, ммоль/л	1,1 \pm 0,1	1,2 \pm 0,3	0,84
ЛПНП, ммоль/л	3,8 \pm 0,9	3,3 \pm 1,3	0,75
Триглицериды, ммоль/л	1,9 \pm 0,6	1,8 \pm 0,5	0,87
Глюкоза, ммоль/л	6,5 \pm 2,4	5,8 \pm 0,5	0,13
НОМА-IR	3,8 \pm 1,7	3,7 \pm 1,2	0,53
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	7,2 \pm 3,5	6,0 \pm 0,9	0,11
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	241,1 \pm 36,5	240,6 \pm 96,6	0,5
СОЭ, мм/час	16,1 \pm 6,8	9,6 \pm 4,5	0,09

Результаты

У пациентов со СП по клиничко-лабораторным и гистологическим данным не отмечалось традиционных признаков печеночно-клеточного воспаления: уровень АЛАТ составил (19,6 \pm 6,3) ед./л, АСАТ – (22,1 \pm 5,7) ед./л, билирубина – (15,5 \pm 9,0) мкмоль/л, щелочной фосфатазы – (216,3 \pm 63,3) ед./л, СРП – (2,3 \pm 0,3) г/л. При гистологическом исследовании биоптатов печени обнаруживалась преимущественно крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, иногда в сочетании с мелкокапельной жировой дистрофией, не выявлялись баллонная дистрофия и некроз клеток, не было воспалительной инфильтрации в ацинусах и в портальных трактах. В то же время у большей части больных отмечались достоверно повышенные по сравнению со здоровыми лицами уровни ФНО- α и/или ЦК-18, причем не было корреляционной связи между этими двумя показателями. В связи с этим для оценки диагностической роли ФНО- α и ЦК-18 был проведен сравнительный анализ особенностей клинической картины у больных СП в

зависимости от уровня ФНО- α , а затем – от уровня ЦК-18. Содержание ФНО- α у здоровых лиц контрольной группы (n = 35) составило (4,5 \pm 1,1) пг/мл, ЦК-18 – (90,1 \pm 37,2) ед./л.

Как видно из табл. 1, у большинства больных СП (у 26 – 61,9%) выявлялся повышенный уровень ФНО- α (I группа), достоверно превышающий таковой у остальных 16 (38,1%) пациентов (II группа). У пациентов I группы по сравнению со II отмечалось достоверное увеличение уровня АЛАТ, числа лейкоцитов и тромбоцитов и снижение ЛПВП. Различий в других лабораторных тестах, включая ЦК-18, не было. У пациентов I группы выявлялась тесная корреляционная связь уровня ЦК-18 с уровнем холестерина – $r = +0,81$ ($p = 0,005$) и уровнем ЛПНП – $r = +0,85$ ($p = 0,002$).

При сравнительном анализе пациентов со СП с увеличенным (I группа) и нормальным уровнем ЦК-18 (II группа) были выявлены следующие особенности (табл. 2).

Как видно из табл. 2, у большинства пациентов со СП (у 71,4%) выявлялся высокий уровень ЦК-18, свидетельствующий

щий о текущей гибели печеночных клеток апоптотическим путем. У больных I группы по сравнению со II отмечалось достоверное увеличение уровня холестерина. Определялась единственная позитивная корреляционная связь ЦК-18 с уровнем холестерина – $r = +0,52$ ($p=0,04$).

Обсуждение полученных данных

Среди обследованных пациентов со стеатозом печени традиционные лабораторные показатели печеночно-клеточного повреждения (АЛАТ, АСАТ, билирубин) и воспаления (СРП) были нормальными, но при этом у большинства выявлялся повышенный уровень ФНО- α и ЦК-18 – у 61,9% и 71,4% соответственно. Не отмечалось параллелизма между данными показателями, что косвенно могло свидетельствовать о том, что апоптоз печеночных клеток осуществлялся не внешним ФНО-зависимым рецепторным путем, а преимущественно внутренним митохондриальным. Большинство исследователей находят увеличенные уровни в крови ФНО- α и ЦК-18 при стеатогепатите [4], а не при стеатозе в отличие от полученных нами данных.

В группе пациентов с увеличенным уровнем ФНО- α отмечалось достоверное увеличение АЛАТ и числа лейкоцитов, что подтверждало развивающийся минимальный воспалительный процесс при СП. Лейкоциты являются клетками врожденного иммунитета, которые рекрутируются в печень при хроническом воспалении под влиянием ФНО- α . Одновременно у этих же пациентов происходило достоверное увеличение числа тромбоцитов. В последнее время активно обсуждается диагностическая роль числа и размеров тромбоцитов при НАЖБП [8]: одни находят связь между уровнем АЛАТ и числом тромбоцитов [9], другие – между средним размером тромбоцитов и выраженностью воспаления при НАЖБП [10]. Тромбоциты играют важную роль на разных этапах развития хронического воспаления – они выделяют различные цитокины и хемокины, одни из которых способствуют адгезии и миграции лейкоцитов через синусоидальную стенку в очаг повреждения, стимулируют эффекторные клетки, повреждающие гепатоциты, а другие инициируют регенерацию гепатоцитов и заживление поврежденной ткани [9–10].

Нами выявлено достоверное снижение уровня ЛПВП у больных I группы с высоким уровнем ФНО- α . ЛПВП ответственны за транспорт липидов из клетки, поэтому они оказывают защитное действие, предохраняя гепатоциты и адипоциты от перегрузки холестерином и другими липидами [11]. Снижение их уровня у пациентов со СП являлось неблагоприятным прогностическим признаком.

У пациентов со СП с увеличенным уровнем ФНО- α отмечалась тесная связь ЦК-18 с уровнем холестерина ($r = +0,81$, $p = 0,005$) и ЛПНП ($r = +0,85$, $p = 0,002$). Известно, что данные липиды, накапливаясь в печеночной клетке, способствуют экспрессии рецепторов смерти и стимулируют апоптоз гепатоцитов [12].

Среди пациентов со СП с повышенным уровнем ЦК-18 отмечался только достоверный рост уровня холестерина, и он коррелировал с уровнем ЦК-18 ($r = +0,52$, $p = 0,04$), что подчеркивало патогенетическую роль холестерина в развитии апоптоза гепатоцитов при СП, на что указывают и другие авторы [12].

Заключение

Структура контингента больных стеатозом печени оказалась неоднородной: несмотря на отсутствие в крови традиционных показателей цитолиза и воспаления, у 61,9% выявлялся увеличенный уровень ФНО- α и у 71,4% – уровень фрагментов цитокератина-18. У пациентов с увеличенным уровнем ФНО- α отмечался достоверный рост АЛАТ, числа лейкоцитов, тром-

боцитов и снижение уровня ЛПВП, что подтверждало патогенетическую роль данных показателей в развитии печеночно-клеточного воспаления. У пациентов с увеличенным уровнем ЦК-18 выявлялось достоверное повышение содержания холестерина и его тесная связь с ЦК-18, что свидетельствовало о значении холестерина в развитии апоптоза печеночных клеток. Увеличение уровня ФНО- α и цитокератина-18 у больных стеатозом печени указывало на вероятность прогрессирования стеатоза в стеатогепатит и необходимость активной лечебной тактики и диспансерного наблюдения за данными пациентами.

Работа выполнена при финансовой поддержке «Программы развития опорного университета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» на период 2017–2021 годов – проект «Высокие биомедицинские технологии здоровьесбережения населения в арктической и субарктической зонах», в рамках проекта «Разработка технологии скрининговой диагностики неалкогольной жировой болезни печени у лиц с избыточным весом и метаболическим синдромом» № 9173ГУ/2015 от 15.12.2015 г. программы «У.М.Н.И.К.» и государственного задания № 0221-2014-0034.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wong V.W.-S., Wong G.L.-H., Choi P. C.-L., Chan A. W.-H., Li M. K.-P., Chan H.-Y. et al. Disease progression of non-alcoholic fatty liver disease: A prospective study with paired liver biopsies at 3 years. *Gut*. 2010; 59: 969–974. DOI: 10.1136/gut.2009.205088.
2. McPherson S., Hardy T., Henderson E., Burt A.D., Day C.P., Anstee Q.M. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J. Hepatol*. 2015; 62 (5): 1148–1155. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.11.034.
3. Bedogni G., Miglioli L., Masutti F., Tiribelli C., Marchesini G., Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology*. 2005; 42 (1): 44–52. DOI: 10.1002/hep.20734.
4. Braumersreuther V., Viviani G. L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol*. 2012; 18 (8): 727–735. DOI: 10.3748/wjg.v18.i8.727.
5. He L., Deng L., Zhang Q., Guo J., Zhou J., Song W., Yuan F. Diagnostic Value of CK-18, FGF-21, and Related Biomarker Panel in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 9729107. DOI: 10.1155/2017/9729107.
6. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Тихонов И.Н., Широкова Е.Н., Буеверов А.О. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российской общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *РЖГГК*. 2016; 2: 24–42.
7. Лазебник Л.Б., Радченко В.Г., Голованова Е.В., Звенигородская Л.А., Конев Ю.В., Селиверстов П.В. и др. НАЖБП: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации утверждены XV съездом НОГР в 2015 году. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015; 119 (7): 85–97.
8. Chauhan A., Adams D.H., Watson S.P., Lalor P.F. Platelets: No Longer Bystanders in Liver Disease. *Hepatology*. 2016; 64: 1774–1784. DOI: 10.1002/hep.28526.
9. Garjani A., Safaeiyan A., Khoshbaten M. Association between platelet count as a noninvasive marker and ultrasonographic grading in patients with nonalcoholic Fatty liver disease. *Hepat. Mon*. 2015; 15 (1): e24449. DOI: 10.5812/hepatmon.24449.
10. Saremi Z., Rastgoo M., MohammadiFar M., Bijari B., Akbari E. Comparison of platelet number and function between nonalcoholic fatty liver disease and normal individuals. *J. Res. Med. Sci*. 2017 Jun 21; 22: 75. DOI: 10.4103/jrms.JRMS_711_16.
11. Yamada H., Umemoto T., Kawano M., Kawakami M., Kakei M., Momomura S.I. et al. High-density lipoprotein and apolipoprotein A-I inhibit palmitate-induced translocation of toll-like receptor 4 into lipid rafts and inflammatory cytokines in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2017; 484 (2): 403–408. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.01.138.

12. Ioannou G.N. The Role of Cholesterol in the Pathogenesis of NASH. Trends Endocrinol. Metab. 2016; 27 (2): 84–95. DOI: 10.1016/j.tem.2015.11.008.

Аннотация

Цель исследования: определить диагностическую роль маркеров воспаления и апоптоза гепатоцитов при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) – стеатозе печени (СП).

Материалы и методы. Обследованы 42 больных СП: мужчин 23 (54,8%), женщин 19 (45,2%), возраст ($53,4 \pm 11,1$) года. Определялись методом ИФА уровни фрагментов цитокератина-18 (ЦК-18) (тест-система «TPS ELISA», «Biotech», Швеция), туморнекротического фактора альфа (ФНО- α) (тест-система «Human TNF α Platinum ELISA», «eBioscience», Австрия), инсулина («Insulin TEST System», США). Рассчитывался НОМА-IR. Статистический анализ выполнялся с помощью программы «StatGraphics 2.1» с использованием U-теста Манна-Уитни, рангового корреляционного анализа Спирмена.

Результаты. Несмотря на нормальные традиционные показатели печеночно-клеточного воспаления, у 61,9% больных выявлялся увеличенный по сравнению со здоровыми лицами уровень ФНО- α и у 71,4% – уровень фрагментов ЦК-18. У больных с увеличенным уровнем ФНО- α – ($7,0 \pm 1,2$) пг/мл по сравнению с больными с нормальным уровнем ФНО- α – ($3,9 \pm 1,2$) пг/мл отмечался достоверный рост аланинаминотрансферазы, лейкоцитов, тромбоцитов и снижение липопротеинов высокой плотности. У больных с повышенным уровнем ЦК-18 – ($214,7 \pm 90,2$) ед./л против нормального уровня ($68,6 \pm 13,2$) ед./л отмечался достоверный рост уровня холестерина. Уровень ЦК-18 у больных с высоким содержанием ФНО- α и ЦК-18 тесно коррелировал с уровнем холестерина – $r = +0,81$ ($p = 0,005$) и $r = +0,52$ ($p = 0,04$) соответственно, что подтверждало его роль в развитии апоптоза гепатоцитов при СП.

Заключение. Среди больных СП у 61,9% выявлялся высокий уровень ФНО- α и у 71,4% – высокий уровень фрагментов ЦК-18, что свидетельствовало о риске прогрессирования стеатоза в стеатогепатит. У пациентов с увеличенным уровнем ФНО- α отмечались достоверный рост уровня АЛАТ, числа лейкоцитов, тромбоцитов и падение уровня ЛПВП, а у пациентов с высоким уровнем ЦК-18 – рост содержания холестерина, что подтверждает патогенетическую роль этих показателей в развитии печеночно-клеточного повреждения и воспаления.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз печени, печеночно-клеточное повреждение, апоптоз, цитокератин-18, ФНО- α .

Сведения об авторах:

Дуданова Ольга Петровна, профессор, д.м.н., зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней и гигиены ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», медицинский институт; пр. Ленина, д. 33, г. Петрозаводск, 185910, Республика Карелия, Россия; e-mail: odudanova@gmail.com;

Шиповская Анастасия Андреевна, аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней и гигиены ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», медицинский институт; пр. Ленина, д. 33, г. Петрозаводск, 185910, Республика Карелия, Россия; e-mail: nostrick@inbox.ru;

Курбатова Ирина Валерьевна, к.б.н., научный сотрудник лаборатории генетики ИБ КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, д. 11, г. Петрозаводск, 185910, Республика Карелия, Россия; e-mail: irina7m@yandex.ru.

Для контактов:

Дуданова Ольга Петровна; e-mail: odudanova@gmail.com.

Как цитировать:

Дуданова О.П., Шиповская А.А., Курбатова И.В.

Маркеры печеночно-клеточного повреждения и воспаления при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2017; (3):16-20.

Конфликт интересов:

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Received 08.02.2017

Markers of hepatocellular injury and inflammation in early form of nonalcoholic fatty liver disease

O.P. Dudanova¹, A.A. Shipovskaya¹, I.V. Kurbatova²¹Petrozavodsk State University; ²Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the RAS (IB KarRC RAS), Petrozavodsk, Russia

Abstract

The aim: to determine the diagnostic role of markers of inflammation and hepatocyte apoptosis in the early form of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) – hepatosteatosis (HS).

Materials and methods. 42 patients with HS were examined: men 23 (54.8%), women 19 (45.2%), at the age of (53.4 ± 11.1) years. The levels of cytokeratin-18 fragments (CK-18) (TPS ELISA test system, Biotech, Sweden), tumor necrotic factor alpha (TNF-α) (the test system “Human TNFα Platinum ELISA”, “eBioscience”, Austria), insulin (“Insulin TEST System”, USA) were detected. HOMA-IR was calculated. The statistical analysis was performed using the “StatGraphics 2.1” program using the Mann-Whitney U test, the Spearman rank correlation analysis.

Results. Despite the normal traditional parameters of hepatocellular inflammation, 61.9% of patients showed an increased level of TNF-α compared with healthy individuals and 71.4% – of the level of fragments of CK-18. We detected a significant increase in alanine aminotransferase, leukocytes, platelets and a decrease high-density lipoproteins in patients with increased TNF-α – (7.0 ± 1.2) pg/ml, compared with patients with normal TNF-α – (3.9 ± 1.2) pg/ml; and a significant increase in cholesterol in patients with elevated level of CK-18 – (214.7 ± 90.2) U/l against the normal level – (68.6 ± 13.2) U/l. The level of CK-18 in patients with a high content of TNF-α and CK-18 closely correlated with the level of cholesterol – r = +0.81 (p = 0.005) and r = +0.52 (p = 0.04), respectively, confirming its role in the development of hepatocyte apoptosis in HS.

Conclusion. Among the patients of the hepatosteatosis 61.9% had a high level of TNF-α and 71.4% had a high level of fragments of CK-18, which indicated a risk of progression of hepatosteatosis to steatohepatitis. In patients with an increased level of TNF-α significant increase in alanine aminotransferase, the number of leukocytes, platelets and the decline in HDL-C level was noted, and in patients with a high level of CK-18 – the increase in cholesterol level, which confirmed the pathogenetic role of these indicators in the development of hepatocellular damage and inflammation.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, hepatosteatosis, hepatocellular injury, apoptosis, cytokeratin-18, TNF-α.

The work was carried out with the financial support of the «Program for the development of the base University of «Petrozavodsk State University» for the period 2017-2021 – the project «High biomedical technologies for public health in the arctic and subarctic zones», within the framework of the project «Development of Screening Diagnostics Technology for Nonalcoholic Fatty Liver Disease In persons with overweight and metabolic syndrome» № 9173ГУ/2015 from 15.12.2015 of the program «U.M.N.I.K.» and state task № 0221-2014-0034.

REFERENCES

1. Wong V.W.-S., Wong G.L.-H., Choi P. C.-L., Chan A. W.-H., Li M. K.-P., Chan H.-Y. *et al.* Disease progression of non-alcoholic fatty liver disease: A prospective study with paired liver biopsies at 3 years. *Gut*. 2010; 59: 969–974. DOI: 10.1136/gut.2009.205088.
2. McPherson S., Hardy T., Henderson E., Burt A.D., Day C.P., Anstee Q.M. Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: implications for prognosis and clinical management. *J. Hepatol.* 2015; 62 (5): 1148–1155. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.11.034.
3. Bedogni G., Miglioli L., Masutti F., Tiribelli C., Marchesini G., Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology*. 2005; 42 (1): 44–52. DOI: 10.1002/hep.20734.
4. Braumersreuther V., Viviani G. L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.* 2012; 18 (8): 727–735. DOI: 10.3748/wjg.v18.i8.727.
5. He L., Deng L., Zhang Q., Guo J., Zhou J., Song W., Yuan F. Diagnostic Value of CK-18, FGF-21, and Related Biomarker Panel in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int.* 2017; 2017: 9729107. DOI: 10.1155/2017/9729107.
6. Ivashkin V.T., Maevskaja M.V., Pavlov Ch.S., Tihonov I.N., Shirokova E.N., Bueverov A.O. *et al.* Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the Russian gastroenterological association. *RZhGGK*. 2016; 2: P. 24–42. Russian.
7. Lazebnik L.B., Radchenko V.G., Golovanova E.V., Zvenigorodskaja L.A., Konev Ju.V., Seliverstov P.V. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic, symptoms, treatment guidelines were approved by the XV gastroenterological scientific society of Russia in 2015. *Jekspertmental'naja i klinicheskaja gastroenterologija*. 2015; 119 (7): 85–97. Russian.
8. Chauhan A., Adams D.H., Watson S.P., Lalor P.F. Platelets: No Longer Bystanders in Liver Disease. *Hepatology*. 2016; 64: 1774–1784. DOI 10.1002/hep.28526.
9. Garjani A., Safaeiyan A., Khoshbaten M. Association between platelet count as a noninvasive marker and ultrasonographic grading in patients with nonalcoholic Fatty liver disease. *Hepat. Mon.* 2015; 15 (1): e24449. DOI: 10.5812/hepatmon.24449.
10. Saremi Z., Rastgoo M., Mohammadiyafard M., Bijari B., Akbari E. Comparison of platelet number and function between nonalcoholic fatty liver disease and normal individuals. *J. Res. Med. Sci.* 2017 Jun 21; 22: 75. DOI: 10.4103/jrms.JRMS_711_16.
11. Yamada H., Umemoto T., Kawano M., Kawakami M., Kakei M., Momomura S.I. *et al.* High-density lipoprotein and apolipoprotein A-I inhibit palmitate-induced translocation of toll-like receptor 4 into lipid rafts and inflammatory cytokines in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017; 484 (2): 403–408. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.01.138.
12. Ioannou G.N. The Role of Cholesterol in the Pathogenesis of NASH. *Trends Endocrinol. Metab.* 2016; 27 (2): 84–95. DOI: 10.1016/j.tem.2015.11.008.

Authors:

Dudanova Olga P., DSc, Professor, Head of the Department of Propaedeutic of Internal Diseases and Hygiene, Petrozavodsk State University, Medical Institute, 33 Lenin pr., Petrozavodsk, 185910, the Republic of Karelia, Russia; e-mail: odudanova@gmail.com;
Shipovskaya Anastasiya A., Post-Graduate Student of the Department of Propaedeutic of Internal Diseases and Hygiene, Petrozavodsk State University, Medical Institute, 33 Lenin pr., Petrozavodsk, 185910, the Republic of Karelia, Russia; e-mail: nostrick@inbox.ru;
Kurbatova Irina V., Ph.D., Scientific Research Ass. Employer of the Laboratory for Genetics, IB KarRC RAS, 11 Pushkinskaya street, Petrozavodsk, 185910, the Republic of Karelia, Russia; e-mail: irina7m@yandex.ru.

Corresponding author:

Dudanova Olga P., e-mail: odudanova@gmail.com.

Suggested citation for this article:

Dudanova O.P., Shipovskaya A.A., Kurbatova I.V. Markers of hepatocellular injury and inflammation in early form of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterologija Sankt-Peterburga*. 2017; (3):16-20.

Conflicts of Interest:

The authors declare no conflict of interest.