

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *PNPLA3*, *SERPINA1* И *HFE* НА ТЕЧЕНИЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Д.В. Сидоренко¹, В.Д. Назаров¹, С.В. Лапин¹, В.Л. Эмануэль¹, К.Л. Райхельсон², В.П. Ковязина²

¹ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России,
Российская Федерация, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8;
²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ),
Российская Федерация, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7–9
E-mail: si-do-renko@mail.ru

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сидоренко Дарья Владимировна – клинический ординатор. Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ молекулярной медицины МЗ РФ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Тел.: +7 (921) 419-14-64. E-mail: si-do-renko@mail.ru. ORCID: 000-0001-8503-0759

Назаров Владимир Дмитриевич – младший научный сотрудник. Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ молекулярной медицины МЗ РФ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Кандидат медицинских наук. Тел.: +7 (952) 362-14-17. E-mail: nazarov19932@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9354-8790

Лапин Сергей Владимирович – заведующий лабораторией. Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ молекулярной медицины МЗ РФ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Кандидат медицинских наук. Тел.: +7 (911) 708-36-28. E-mail: svlapin@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Эмануэль Владимир Владимирович – заведующий кафедрой. Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова. Доктор медицинских наук, профессор. Тел.: +7 (921) 430-13-09. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

Райхельсон Карина Леонидовна – профессор. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», научно-клинический и образовательный центр гастроэнтерологии и гепатологии. Доктор медицинских наук, профессор. Тел.: +7 (911) 911-01-43. E-mail: kraikhelson@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8821-6142

Ковязина Вероника Павловна – старший лаборант. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», научно-клинический и образовательный центр гастроэнтерологии и гепатологии. Тел.: +7 (911) 911-01-43. E-mail: veronikakovyazina@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8159-9745

Введение. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является наиболее распространенным заболеванием печени. Однако остается неясным, какие факторы влияют на прогрессирование заболевания. Представляется интересным изучение влияния генетического аспекта на течение НАЖБП.

Цель исследования. Оценить влияние полиморфизмов генов *PNPLA3*, *SERPINA1*, *HFE* на развитие НАЖБП.

Материал и методы. Обследованы 59 пациентов с НАЖБП. Оценены антропометрические данные, биохимические показатели, исключены наследственные заболевания печени. Степень стеатоза и стадия фиброза печени оценивались с помощью транзитной эластометрии на аппарате «Фиброскан». Генотипирование точечных мутаций в генах *PNPLA3* (*rs738409*), *SERPINA1* (*rs17580* и *rs28929474*) и *HFE* (*rs1799945*, *rs1800730* и *rs1800562*) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. Полиморфизмы гена *PNPLA3* обнаружены у 61%, гена *SERPINA1* – у 10,2% и гена *HFE* – у 28,8%. У носителей полиморфизма I148M гена *PNPLA3* значение АЛТ было выше в группах сравнения гетеро- и гомозиготных носителей и нормального генотипа ($p=0,012$ и $p=0,017$). Уровень АСТ также был выше у носителей генотипа MZ гена *SERPINA1* ($p=0,049$). Уровень АЛТ был выше у носителей полиморфизмов H63D и C282Y гена *HFE* по сравнению с нормальным генотипом ($p=0,02$ и $p=0,03$), та же связь продемонстрирована для носителей C282Y и уровня АСТ ($p=0,017$). При оценке уровня стеатоза средний показатель КПЗУ был выше в группе гомозиготных носителей I148M гена *PNPLA3* ($p=0,045$) и носителей полиморфизма C282Y ($p=0,021$) гена *HFE* по сравнению с нормальным генотипом. Взаимосвязи между наличием полиморфизмов и выраженностью фибротических изменений не обнаружено. У пациентов с индексом массы тела ≥ 35 кг/м² наблюдались более высокие показатели жесткости печени ($p=0,037$).

Заключение. Наличие полиморфизмов генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* при НАЖБП ассоциировано с повышением лабораторных маркеров гепатоцеллюлярного повреждения и выраженностью стеатоза печени.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, НАЖБП, *PNPLA3*, *SERPINA1*, *HFE*, стеатоз печени, фиброз печени

EFFECT OF *PNPLA3*, *SERPINA1*, AND *HFE* GENES POLYMORPHISMS ON THE COURSE OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

D.V. Sidorenko¹, V.D. Nazarov¹, S.V. Lapin¹, V.L. Emanuel¹, K.L. Raikhelson², V.P. Kovyazina²

¹Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Lva Tolstogo str. 6–8, Saint Petersburg, 197022, Russian Federation;

²Saint Petersburg State University, Universitetskaya Emb., 7/9, Saint-Petersburg, Russian Federation, 199034

E-mail: si-do-renko@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Sidorenko Darya Vladimirovna – medical resident. Autoimmune Disease Diagnostic Laboratory of Methodological Centre for Molecular Medicine of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Тел.: +7 (921) 419-14-64. E-mail: si-do-renko@mail.ru. ORCID: 000-0001-8503-0759

Nazarov Vladimir Dmitrievich – junior researcher. Autoimmune Disease Diagnostic Laboratory of Methodological Centre for Molecular Medicine of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Candidate of Medical Science. Tel.: +7 (952) 362-14-17. E-mail: nazarov19932@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9354-8790

Lapin Sergey Vladimirovich – Head of the Laboratory. Autoimmune Disease Diagnostic Laboratory of Methodological Centre for Molecular Medicine of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Candidate of Medical Science. Tel.: +7 (911) 708-36-28. E-mail: svlapin@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4998-3699

Emanuel Vladimir Leonidovich – Head of the Department. Department of Clinical Laboratory Diagnostics with Molecular Medicine Course of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Doctor of Medicine, Professor. Tel.: +7 (921) 430-13-09. E-mail: vladimirem1@gmail.com. ORCID: 0000-0002-2079-0439

Raikhelson Karina Leonidovna – Professor. Scientific and Educational Center of Gastroenterology and Hepatology, Saint-Petersburg State University. Doctor of Medicine, professor. Tel.: +7 (911) 911-01-43. E-mail: kraikhelson@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8821-6142

Kovayzina Veronika Pavlovna – senior laboratory assistant. Scientific and Educational Center of Gastroenterology and Hepatology, Saint-Petersburg State University. Tel.: +7 (911) 911-01-43. E-mail: veronikakovayzina@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8159-9745

Introduction: nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease worldwide. But it remains unclear what factors influence the progression of the disease. It is interesting to study the influence of the genetic aspect on the course of NAFLD.

The aim of the study: to investigate the influence of PNPLA3, SERPINA1, HFE gene polymorphisms on the development of NAFLD.

Methods: 59 NAFLD patients were examined. Anthropometric data and biochemical indices were assessed. Hereditary liver diseases were excluded. The degree of steatosis and the stage of hepatic fibrosis were assessed using transient elastometry on a Fibroscan. Genotyping of point mutations in genes PNPLA3 (rs738409), SERPINA1 (rs17580 and rs28929474) and HFE (rs1799945, rs1800730 and rs1800562) was performed by real-time PCR.

Results: polymorphisms in the PNPLA3 gene were found in 61%, in the SERPINA1 gene – in 10.2%, and in the HFE gene – in 28.8% of cases. In carriers of the I148M polymorphism of the PNPLA3 gene the ALT level was significantly higher in the comparison groups of hetero- and homozygous carriers and the normal genotype ($p=0.012$ and $p=0.017$). The AST level was also significantly higher in carriers of the MZ genotype of the SERPINA1 gene ($p=0.049$). The ALT level was higher in carriers of the H63D and C282Y polymorphisms of the HFE gene compared with the normal genotype ($p=0.02$ and $p=0.03$). The same relationship was demonstrated for carriers of C282Y and AST level ($p=0.017$). When assessing the level of steatosis, the average CAP was higher in the group of homozygous carriers of I148M of the PNPLA3 gene ($p=0.045$) and carriers of polymorphism C282Y ($p=0.021$) compared with the normal genotype. Authors found no relationship between pathological polymorphisms in the PNPLA3, SERPINA1, and HFE genes and the severity of fibrotic changes. Patients with a BMI \geq of 35 kg/m² had a higher liver fibrosis rate ($p=0.037$).

Conclusion: the presence of polymorphisms of the PNPLA3, SERPINA1, and HFE genes in NAFLD is associated with an increase in laboratory markers of hepatocellular damage, as well as the severity of hepatic steatosis.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD, PNPLA3, SERPINA1, HFE, liver steatosis, liver fibrosis

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является одним из самых распространенных заболеваний печени в развитых странах [1]. По данным проспективного исследования DIREG-2, частота НАЖБП среди амбулаторных пациентов в России за последние годы увеличилась и продолжает расти [2]. К ведущим патогенетическим механизмам развития заболевания относят инсулинорезистентность, однако также рассматривается вклад диеты, малоподвижного образа жизни, состава микробиоты кишечника, а также генетических факторов [3]. Несмотря на преимущественно благоприятный прогноз заболевания в большинстве случаев, остается неясным, что вызывает его трансформацию в фиброз и цирроз у ряда пациентов. Так, ряд зарубежных исследований продемонстрировали, что у 27% пациентов с НАЖБП менее чем через десятилетие формируются фибротические изменения печени, а в 19% случаев развивается цирроз [4–6].

Отмечается, что молекулярно-генетические маркеры способны определять риск перехода доброкачественного неалкогольного стеатоза в более агрессивный стеатогепатит [7], что делает их полезным инструментом для оценки прогноза НАЖБП у отдельно взятого пациента. На сегодняшний день известны некоторые гены-кандидаты, способные определять прогноз заболевания. К ним относятся PNPLA3, TM6SF2, GSKR, ENPP1, PPAR [8]. Кроме того, вклад в развитие неалкогольного стеатогепати-

та способны вносить гены, ассоциированные с иной патологией печени, например, SERPINA1 (дефицит α_1 -антитрипсина – A1AT) и HFE (наследственный гемохроматоз). При этом, как правило, носители этих мутаций не имеют клинических и лабораторных проявлений гемохроматоза и дефицита A1AT [7].

Наибольшую доказательную базу относительно влияния на развитие НАЖБП имеет полиморфизм I148M (rs738409) гена PNPLA3. В результате появления данной аминокислотной замены белок адипонутрин теряет способность к гидролизу триглицеридов, а его накопление вокруг жировых капель препятствует доступу других липолитических ферментов, что приводит к формированию макровезикулярного стеатоза [9]. Это также индуцирует развитие фиброза печени за счет увеличения липидной фракции в клетках Ито с последующей их трансформацией в миофибробластоподобные клетки и секрецией профибротических цитокинов [10].

Другим генетическим фактором, способным оказывать влияние на течение НАЖБП, являются полиморфизмы G264V (PiS) и G342L (PiZ) гена SERPINA1, кодирующего ингибитор сериновых протеаз, A1AT. Известно, что A1AT обладает иммуномодулирующей активностью, а его дефицит предрасполагает к провоспалительным изменениям [11], которые могут являться решающими при формировании неалкогольного стеатогепатита. Кроме того, при наличии Z-аллели гена SERPINA1 измененный белок A1AT не способен полноценно секретироваться из эндоплазм-

матической сети гепатоцитов, где он накапливается и приводит к апоптозу клеток [12] с последующим развитием фиброза печени.

Важную роль в развитии воспалительных изменений паренхимы печени играют аберрации в гене *HFE*, которые обычно рассматриваются как причина наследственного гемохроматоза типа 1. Полиморфизмы H63D, S65C и C282Y в гене *HFE* предрасполагают к развитию гиперферритинемии и перегрузке печени железом [13]. Проксидантные формы несвязанного железа приводят к прямому повреждению гепатоцитов, а также провоцируют секрецию коллагена звездчатыми клетками и перипортальными миофибробластами, результатом чего становится формирование стеатогепатита и развития фиброза печени [14].

Цель нашего исследования состояла в оценке влияния полиморфизмов генов *PNPLA3*, *SERPINA1*, *HFE* на течение НАЖБП.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 59 пациентов из Санкт-Петербурга с верифицированным диагнозом НАЖБП (29 мужчин и 30 женщин). У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании и публикацию результатов в научных изданиях. Были исключены иные причины заболеваний печени (алкогольные, инфекционные, аутоиммунные, токсические и другие) методами биохимического, иммунологического и инструментального скрининга. В том числе определялись показатели насыщения трансферрина, сывороточного ферритина, А1АТ. Проведена оценка антропометрических данных (рост, масса тела, индекс массы тела – ИМТ, окружность талии – ОТ), оценены биохимические показатели углеводного и липидного обмена (глюкоза, общий холестерин, триглицериды, липидограмма, коэффициент атерогенности), а также маркеры повреждения печени (активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, уровень билирубина, международное нормализованное отношение). Степень стеатоза и стадия фиброза печени оценивались с помощью транзитной эластометрии с оценкой контролируемого параметра затухания ультразвука (КПЗУ) на аппарате «Фиброскан 502 TOUCH» (Echosens, Франция). Из образцов слюны выделена ДНК, было произведено генотипирование точечных мутаций в генах *PNPLA3* (rs738409 C>G), *SERPINA1* (rs17580 A>T и rs28929474 G>A) и *HFE* (rs1799945 C>G, rs1800730 A>T и rs1800562 G>A) методом ПЦР в реальном времени (набор Test-Gen, Россия и набор Thermo Fisher, США). При статистической обработке полученных данных для оценки нормальности распределения использовался критерий Д'Агостино и Пирсона. Оценка достоверности была произведена для параметрических выборок – с помощью t-критерия Стьюдента, для непараметрического – с помощью U-критерия Манна–Уитни с применением программного обеспечения GraphPad Prism 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании приняли участие 59 пациентов – 30 женщин и 29 мужчин. Основные характеристики пациентов представлены в табл. 1. Значимых гендерных различий не отмечалось.

Избыточная масса тела отмечена у 41,3% пациентов, ожирение различной степени – у 50%, лишь у 8,7% масса тела соответствовала рекомендуемым весоростовым параметрам. Диагноз сахарный диабет типа 2 не был подтвержден ни у одного из обследуемых. Поскольку патогенез НАЖБП тесно связан с нарушениями метаболизма липидов, ожирением и инсулинорезистентностью, была произведена оценка влияния величины ИМТ, охвата талии и уровня глюкозы на лабораторные и инструментальные параметры состояния печени и степени стеатоза печени – достоверной связи не установлено. Однако при сравнении пациентов с ИМТ <35 и ≥35 кг/м² у последних выявлено значимое повышение эластичности печени – 6,2±3,3 и 11±6,1 кПа соответственно

Таблица 1

Основные характеристики исследуемых пациентов

Table 1

Main characteristics of the studied patients

Показатель	Жен (n=30)	Муж (n=29)	p
Возраст, годы	53±10,1	46,9±13,8	0,06
САД, мм рт. ст.	128,4±8,8	133,5±12,3	0,1
ДАД, мм рт. ст.	79,5±6,5	83 ±7,3	0,11
Глюкоза, ммоль/л	5,4±0,7	6,1±2,2	0,44
ИМТ, кг/м ²	31,9±5,9	30,1±5	0,52
ОТ, см	98,3±14,6	107,4±16,9	0,06
Общий холестерин, ммоль/л	5,9±1,2	5,3±1,3	0,08
ТАГ, ммоль/л	1,6±0,7	2±1	0,37
ЛПОНП, ммоль/л	0,9±0,2	1,1±0,5	0,83
ЛПНП, ммоль/л	3,9±1,1	3,3±1,2	0,36
ЛПВП, ммоль/л	1,3±0,3	1,2±0,3	0,33
Коэффициент атерогенности	3,6±1,6	3,5±1	0,8
АЛТ, Ед/л	60,8±71,8	48,3 ±30,9	0,99
АСТ, Ед/л	51±52,7	34,9±18,3	0,73
КПЗУ, Дб/м	307,1±36,3	290±29	0,16
Эластичность печени, кПа	7,6±4,3	6,9±4,7	> 0,99

Примечание: САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ТАГ – триацилглицериды; ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности; ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; p – уровень значимости.

Note: p – significance level.

($p=0,037$), что свидетельствует о более выраженном фиброзе.

Частота выявления однонуклеотидных полиморфизмов (англ. Single nucleotide polymorphism, SNP) в генах *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* и частоты аллелей среди исследуемых пациентов представлены в табл. 2.

Также произведена оценка сочетания патологических полиморфизмов исследуемых генов у одного пациента (рис. 1).

Для оценки цитолитического синдрома у пациентов были измерена активность основных печеночных ферментов. При анализе аминотрансфераз в группах сравнения гомо- и гетерозиготных носителей измененного аллеля гена *PNPLA3* ($112,4 \pm 120,9$ и $48,4 \pm 34,4$ Ед/л соответственно; $p=0,012$), а также гомозиготного генотипа и пациентов без полиморфизма выявлено значимое повышение уровня активности АЛТ между аллельными формами (соответственно $112,4 \pm 120,9$ и $41,2 \pm 22,3$ Ед/л; $p=0,017$) (см. рис. 2).

Выявлено значимое различие активности АСТ в группах сравнения гетерозиготных носителей PiZ аллеля гена *SERPINA1* и нормального генотипа (соответственно 64 ± 24 и $41,5 \pm 40,2$ Ед/л; $p=0,049$).

Также при оценке активности АЛТ в зависимости от генотипа гена *HFE* обнаружена значимая разница в группах сравнения носителей полиморфизма H63D ($82,7 \pm 61$ и $52,7 \pm 54,5$ соответственно; $p=0,02$) и

C282Y по сравнению с нормальным генотипом (соответственно $137,9 \pm 141,4$ и $45,7 \pm 28,2$ Ед/л; $p=0,03$) (см. рис. 3). Кроме того, при сравнении носителей мутации C282Y и пациентов с нормальным генотипом выявлено значимое различие в уровнях АСТ (соответственно $102,1 \pm 92,5$ и $36,6 \pm 24,4$ Ед/л; $p=0,017$).

Значения щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы, уровень билирубина, международное нормализованное отношение не имели значимых различий в группах сравнения носителей полиморфизмов генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* и пациентов с референсным генотипом.

Оценка накопления жирового компонента в печени осуществлялась путем оценки КПЗУ в группах пациентов с различными генотипами.

Отмечалась более высокая степень стеатоза печени у гомозиготных носителей полиморфизма I148M гена *PNPLA3* в сравнении с пациентами с нормальным генотипом (соответственно $321 \pm 30,8$ и $287,5 \pm 22,5$ Дб/м; $p=0,045$) (см. рис. 3).

При оценке накопления липидов в печени с помощью транзитной эластометрии с функцией CAP в группе сравнения гетерозиготных носителей полиморфизма C282Y гена *HFE* и пациентов с нор-

Таблица 2

Частота выявления SNP и частоты аллелей генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE*

Table 2

Frequency of SNP detection and allele frequencies of *PNPLA3*, *SERPINA1* and *HFE* genes

SNP	Генотип, %			Алель	
<i>PNPLA3</i>					
I148M	CC	CG	GG*	C	G
	13,56	47,46	38,98	0,627	0,373
<i>SERPINA1</i>					
Pi*S	AA	AT	TT*	A	T
	–	5,08	94,92	0,025	0,975
Pi*Z	GG	GA	AA*	G	A
	–	5,08	94,92	0,025	0,975
<i>HFE</i>					
H63D	CC	CG	GG*	C	G
	1,69	15,25	83,05	0,093	0,907
S65C	AA	AT	TT*	A	T
	–	5,08	94,92	0,025	0,975
C282Y	GG	GA	AA*	G	A
	–	8,47	91,53	0,042	0,958

Примечание: * – референтный генотип.

Note: * – reference genotype.

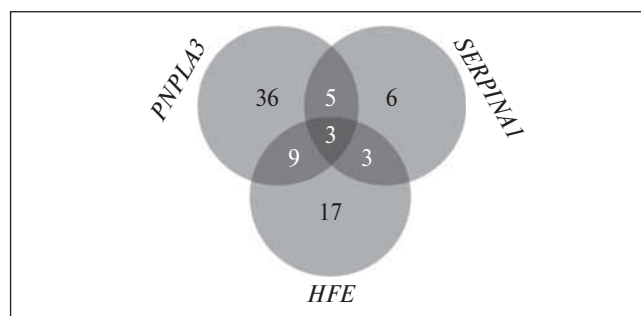


Рис. 1. Количество пациентов с сочетаниями патологических полиморфизмов генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE*
Fig. 1. Number of patients with combinations of pathological polymorphisms of the *PNPLA3*, *SERPINA1* and *HFE* genes

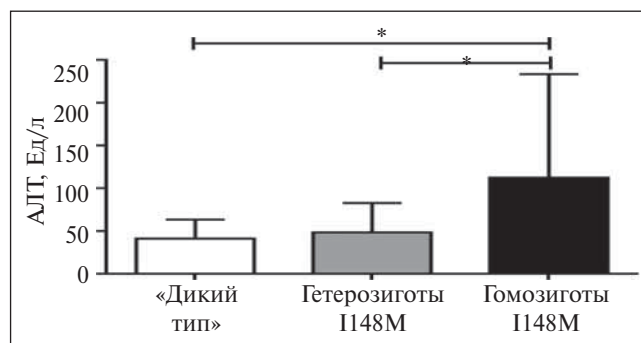


Рис. 2. Средние значения активности АЛТ в зависимости от генотипа *PNPLA3*.

Примечание: * – $p < 0,05$.

Fig. 2. Average values of ALT activity depending on the *PNPLA3* genotype.

Note: * – $p < 0,05$.

мальным генотипом была установлена значимая разница между указанными группами (соответственно $334,7 \pm 28,2$ и $293,2 \pm 31,1$ Дб/м; $p=0,021$).

Оценка эластичности печени проводилась методом транзистентной эластометрии в группах исследуемых с разным генотипом. При этом между группами пациентов с полиморфизмами исследуемых генов в гомо- и гетерозиготном состоянии и носителями нормального генотипов значимой разницы между показателями эластичности печени не продемонстрировано.

При оценке влияния сочетания патологических генотипов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* у одного пациента были продемонстрированы более высокие показатели активности трансаминаз с увеличением числа вовлеченных генов (рис. 4). Значимая разница продемонстрирована между группой пациентов с патологическими генотипами 3 генов и 1 вовлеченным геном (соответственно $168 \pm 149,4$ и $42,9 \pm 22,3$ Ед/л; $p=0,005$) и референтным генотипом (соответственно $168 \pm 149,4$ и $40,8 \pm 25,5$ Ед/л; $p=0,015$).

Неалкогольная жировая болезнь печени, несмотря на свое доброкачественное течение в большинстве случаев, является одной из самых частых причин развития цирроза печени и потребности в трансплантации печени в мире [15]. Единственным способом профилактики ее осложнений является своевременное прогнозирование развития неалкогольного стеатогепатита и фиброза. В связи с широким распространением заболевания современное здравоохранение нуждается в эффективных маркерах прогноза НАЖБП для каждого отдельно взятого пациента. Молекулярно-генетическое обследование генов, ассоциированных с прогрессией заболевания, может стать незаменимым предиктором агрессивного течения НАЖБП.

Гетерогенность генетической составляющей НАЖБП представляет особый интерес в изучении развития и прогрессирования заболевания. Помимо наиболее исследованного и доказанного влияния полиморфизма гена *PNPLA3* на НАЖБП, проведена оценка влияния асимптомного носительства мута-

ций в генах, связанных с развитием наследственного гемохроматоза (*HFE*) и недостаточностью А1АТ (*SERPINA1*). Согласно существующим положениям о диагностике данных заболеваний, наличие мутантных генов не является основанием для установления диагноза. Но, как показали результаты проведенного исследования, может вносить определенный вклад в изменение состояния печени.

В нашем исследовании продемонстрирована взаимосвязь полиморфизма I148M гена *PNPLA3* с развитием более выраженного повышения АЛТ в группах сравнения гомозиготных носителей с гетерозиготными и с нормальным генотипом ($p=0,017$ и $p=0,012$ соответственно). Это отражает влияние носительства аллели гена на развитие цитолитического синдрома у пациентов с НАЖБП. Наши данные совпадают с выводами метаанализа 65 исследований, проведенного Dai et al. (2019) [16], и посвященного влиянию полиморфизма гена *PNPLA3* на течение НАЖБП. Однако в группах сравнения гетерозиготных носителей полиморфизма и нормального генотипа значимой разницы в активности АЛТ не выявлено, что может быть связано с малой выборкой пациентов в нашем исследовании. Связь между повышением активности АСТ и наличием полиморфизма гена *PNPLA3* не была достоверно продемонстрирована ни в одной из групп сравнения. Данный феномен может быть связан с тем, что показатель АСТ относится к менее чувствительным маркерам цитолиза гепатоцитов, нежели АЛТ. Однако по данным литературы, в исследовании K. Hotta et al. (2010) [17] мутантный аллель гена *PNPLA3* был связан с более высокими уровнями как АЛТ, так и АСТ.

При оценке влияния aberrаций в гене *SERPINA1* на развитие цитолитического синдрома в данном исследовании была установлена значимая разница значений АСТ в группах сравнения носителей Z-аллеля и нормальным генотипом ($p=0,049$). Похожие результаты были получены в исследовании B. Prins et al. (2017) [18], где носительство Z-генотипа было связано с повышением уровня активности цитолитического син-

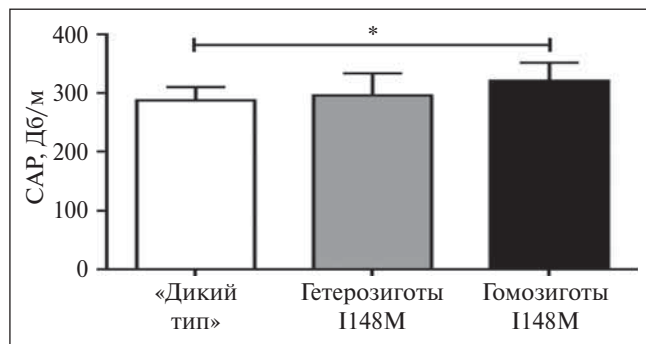


Рис. 3. Средние показатели КПЗУ в зависимости от генотипа *PNPLA3* (оценка степени стеатоза)

Примечание: * – $p < 0,05$.

Fig. 3. Average indicators of CAP depending on the *PNPLA3* genotype (assessment of the degree of steatosis)

Note: * – $p < 0.05$.

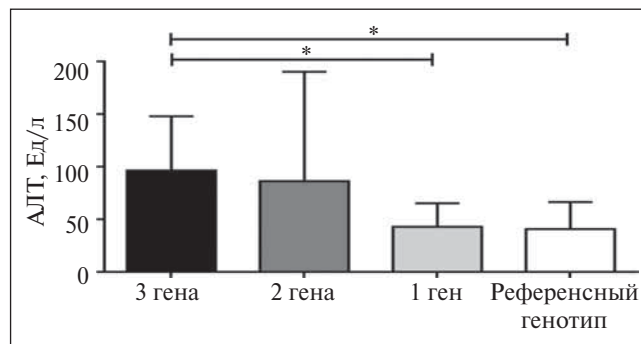


Рис. 4. Средние значения активности АЛТ в зависимости от количества генов с патологическим генотипом

Примечание: * – $p < 0,05$.

Fig. 4. Average values of ALT activity depending on the number of genes with a pathological genotype

Note: * – $p < 0.05$.

дрома. Для уровня АЛТ и PiS-аллеля подобной связи не обнаружено, что опять же может быть связано с малой выборкой пациентов в данном исследовании.

По данным исследования влияния aberrаций в гене *HFE* на развитие цитолитического синдрома у пациентов с НАЖБП в группах сравнения носителей мутаций H63D и C282Y с нормальным генотипом была показана значимая разница между группами в отношении уровня АЛТ ($p=0,02$ и $p=0,03$ соответственно). Кроме того, при сравнении носителей мутации C282Y и пациентов с нормальным генотипом выявлено значимое различие в уровнях АСТ ($p=0,017$). Полученные данные соответствуют исследованию F. Giambattistelli et al. (2012) [19], в котором продемонстрирована связь между H63D и C282Y генотипами гена *HFE* и повышением уровня печеночных трансаминаз. Значимой разницы в повышении активности АЛТ и АСТ и aberrациями в гене *HFE* в других группах сравнения не обнаружено.

При сравнении пациентов с нормальным генотипом и гомозиготных носителей полиморфизма I148M гена *PNPLA3* выявлена большая выраженность стеатоза печени, по данным оценки КПЗУ, у носителей мутантного аллеля ($p=0,045$). Это отражает патогенез, вызываемый aberrацией: остановка гидролиза липидных капель и препятствие доступу к ним других липолитических ферментов ведет к формированию макроvesикулярного стеатоза печени [9]. Полученные данные соответствуют исследованию L. Valenti et al. (2010) [20], в которой наличие полиморфизма гена *PNPLA3* связано с более высокими степенями гистологически выявляемого стеатоза печени. Отсутствие достоверной разницы в степени стеатоза в группах сравнения гетерозиготных носителей с гомозиготными и с нормальным генотипом в данном исследовании может быть следствием того, что оценка КПЗУ обладает меньшей чувствительностью по сравнению с гистологическим исследованием.

Нами не выявлено взаимосвязей между наличием патологических вариантов гена *SERPINA1* и выраженностью изменений в печени, оцененных инструментально, у пациентов с НАЖБП. Это может быть объяснено тем, что для патологического влияния на структуры печени недостаточно гетерозиготного носительства Z-аллеля и изменены должны быть оба варианта гена. Так, в работе K. Hamesch et al. (2019) [21] связь с более выраженным накоплением жира в печени была продемонстрирована только для гомозиготных носителей Z-аллеля гена *SERPINA1*.

При исследовании влияния генотипа *HFE* на развитие стеатоза печени обнаружена достоверная разница уровней накопления липидов в группах носителей C282Y полиморфизма и нормальным генотипом ($p=0,021$). Это подтверждается метаанализом Q. Ye et al. (2016) [22], в котором при рассмотрении 43 исследования удалось установить связь между измененным генотипом *HFE* и более выраженным стеатозом печени.

По результатам данного исследования при изучении выраженности фиброза в зависимости от генотипа гена *PNPLA3* не выявлено достоверной разницы ни

в одной из групп сравнения. Это может быть связано с малой выборкой пациентов и сравнительно молодым средним возрастом исследуемых ($50,2 \pm 12,3$ года). По литературным данным в метаанализе A. Singal et al. (2014) [23] в 24 исследованиях, проведенных с участием около 10 тыс. пациентов, полиморфизм I148M был связан с более ранним формированием и более выраженными степенями фиброза. Кроме того, формирование фиброза печени обусловлено патогенетическими механизмами aberrации — трансформация клеток Ито в миофибробластоподобные, секретирующие коллаген, под действием накопления негидролизованного ретинола пальмитата [10].

В нашем исследовании не было продемонстрировано значимой разницы в эластичности печени между группами с нормальным генотипом и носителями полиморфизмов гена *SERPINA1*. Это также может быть связано с тем, что патологическое влияние aberrации реализуется только в случае гомозиготного носительства Z-аллеля. Так, в опыте K. Hamesch et al. (2019) [21] связь с более высокими степенями фиброза была продемонстрирована только для гомозиготных носителей Z-аллеля гена *SERPINA1*. Кроме того, в исследовании P. Strnad et al. (2019) [24] было обнаружено, что Z-вариант является фактором риска развития цирроза печени, в то время как для S-аллеля такой связи продемонстрировано не было. Также не установлено статистически значимых различий в эластичности печени между группами носителей aberrаций в гене *HFE* и нормального генотипа. Полученные данные подтверждаются работой L. Valenti et al. (2007) [25], где было установлено, что именно отложение железа в гепатоцитах играет ведущую роль в поражении печени, но aberrации в гене *HFE* не влияют на развитие фиброза печени.

Более выраженная активность АЛТ у пациентов с aberrациями в большем количестве исследуемых генов может говорить о взаимном отягощении патологических генотипов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* в отношении гепатоцеллюлярного повреждения. Таким образом, для комплексной оценки рисков прогрессирующего течения НАЖБП целесообразно производить исследование нескольких ассоциированных с заболеванием генов.

Значимое повышение эластичности печени в группе пациентов с ИМТ ≥ 35 кг/м² по сравнению с лицами с нормальным ИМТ и избыточной массой тела ($p=0,037$) свидетельствует о том, что ожирение оказывало наибольшее влияние в отношении развития фиброза печени по сравнению с другими исследуемыми параметрами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные демонстрируют, что aberrации в генах *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* способны оказывать влияние на выраженность цитолитического синдрома у пациентов с НАЖБП, что предполагает более агрессивное течение заболевания. Кроме того, указанные полиморфизмы связаны с развитием

более выраженного стеатоза печени, что также говорит об их отягчающем влиянии на течение патологического процесса. Однако влияния на формирование фиброза печени не выявлено, что требует более пристального изучения этого аспекта в дальнейших исследованиях. Также представляется целесообразным комплексное исследование генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* в связи с накопительным эффектом их аберраций на цитолитический синдром, и, предположительно, на прогрессирование НАЖБП.

Таким образом, исследование полиморфизмов в генах *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* может быть полезным инструментом для прогноза течения НАЖБП.

Конфликт интересов
 Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest
 The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Aithal G.P., Das K., Chowdhury A. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *GI epidemiology: Diseases and clinical methodology*. 2nd ed. Wiley-Blackwell. 2014; 357–72.
2. Пальгова Л.К., Барановский А.Ю., Ушакова Т.И., Юркина А.С., Блинов Д.С. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в Северо-Западном регионе России (результаты открытого многоцентрового проспективного исследования DIREG 2). *Вестник СПбГУ. Медицина*. 2017; 12 (2): 118–35. DOI: 10.21638/11701/spbu.11.2017.201 (Palgova L.K., Baranovskiy A.Y., Ushakova T.I., Yurkina A.S., Blinov D.V. (2017). Epidemiological features of non-alcoholic fatty liver disease in the north-west region of Russia (results of an open multicenter prospective study DIREG 2). *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine*. 2017; 12 (2), 118–35. DOI: 10.21638/11701/spbu.11.2017.201 (In Russian))
3. Kovalic A.J., Banerjee P., Tran Q.T., Singal A.K., Satapathy S.K. Genetic and Epigenetic Culprits in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J. Clin. Exp. Hepatol*. 2018; 8 (4): 390–402. DOI: 10.1016/j.jceh.2018.04.001. PMID: 30564000; PMCID: PMC6286466.
4. Rinella M.E. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*. 2015; 313 (22): 2263–73. DOI: 10.1001/jama.2015.5370. Erratum in: *JAMA*. PMID: 26057287.
5. Singh S., Allen A.M., Wang Z., Prokop L.J., Murad M.H., Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015; 13 (4): 643–54. e1–9; quiz e39–40. DOI: 10.1016/j.cgh.2014.04.014. PMID: 24768810; PMCID: PMC4208976.
6. Pais R., Charlotte F., Fedchuk L., Bedossa P., Lebray P., Poynard T., Ratzliff V. LIDO Study Group. A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver. *J. Hepatol*. 2013; 59 (3): 550–6. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.04.027. PMID: 23665288.
7. Dongiovanni P., Anstee Q.M., Valenti L. Genetic predisposition in NAFLD and NASH: impact on severity of liver disease and response to treatment. *Curr Pharm Des*. 2013; 19 (29): 5219–38. DOI: 10.2174/13816128113199990381. PMID: 23394097; PMCID: PMC3850262.
8. Seko Y., Yamaguchi K., Itoh Y. The genetic backgrounds in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin J. Gastroenterol*. 2018; 11 (2): 97–102. DOI: 10.1007/s12328-018-0841-9. PMID: 29492830.
9. Mitsche M.A., Hobbs H.H., Cohen J.C. Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 promotes transfer of essential fatty acids from triglycerides to phospholipids in hepatic lipid droplets. *J. Biol. Chem*. 2018; 293 (18): 6958–68. DOI: 10.1074/jbc.RA118.002333. Erratum in: *J Biol Chem*. 2018; 293 (24): 9232. PMID: 29555681; PMCID: PMC5936833.
10. Тихомирова А.С., Кисляков В.А., Байкова И.Е., Никитин И.Г. Клинико-морфологические параллели полиморфизма гена *PNPLA3* у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени. *Терапевтический архив*. 2018 и 85–88. 02. DOI: 10.26442/terarkh201890285-88. (Tikhomirova A.S., Kisyakov V.A., Baykova I.E., Nikitin I.G. Clinical-morphological parallels of the *PNPLA3* gene polymorphism in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Therapeutic archive*. 2018 and 85–88. 02. DOI: 10.26442/terarkh201890285-88 (in Russian))
11. Stoller J.K., Aboussou L.S. Alpha-1-antitrypsin deficiency. *Lancet*. 2005; 365 (9478): 2225–36. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)66781-5. PMID: 15978931.
12. Greene C.M., Marciniak S.J., Teckman J., Ferrarotti I., Brantly M.L., Lomas D.A., Stoller J.K., McElvaney N.G. α 1-Antitrypsin deficiency. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2: 16051. DOI: 10.1038/nrdp.2016.51. Erratum in: *Nat Rev Dis Primers*. 2018; 4 (1): 40. PMID: 27465791.
13. Valenti L., Dongiovanni P., Fracanzani A.L., Santorelli G., Fatta E., Bertelli C., Taioli E., Fiorelli G., Fargion S. Increased susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in heterozygotes for the mutation responsible for hereditary hemochromatosis. *Dig Liver Dis*. 2003; 35 (3): 172–8. DOI: 10.1016/S1590-8658(03)00025-2. PMID: 12779071.
14. Pietrangelo A. Metals, oxidative stress, and hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis*. 1996; 16 (1): 13–30. DOI: 10.1055/s-2007-1007215. PMID: 8723320.
15. Zezos P., Renner E.L. Liver transplantation and non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol*. 2014; 20 (42): 15532–8. DOI: 10.3748/wjg.v20.i42.15532. PMID: 25400437; PMCID: PMC4229518.
16. Dai G., Liu P., Li X., Zhou X., He S. Association between *PNPLA3* rs738409 polymorphism and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) susceptibility and severity: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98 (7): e143324. DOI: 10.1097/MD.00000000000014324. PMID: 30762732; PMCID: PMC6407996.
17. Hotta K., Yoneda M., Hyogo H., Ochi H., Mizusawa S., Ueno T., Chayama K., Nakajima A., Nakao K., Sekine A. Association of the rs738409 polymorphism in *PNPLA3* with liver damage and the development of nonalcoholic fatty liver disease. *BMC Med Genet*. 2010; 11: 172. DOI: 10.1186/1471-2350-11-172. PMID: 21176169; PMCID: PMC3018434.
18. Prins B.P., Kuchenbaecker K.B., Bao Y., Smart M., Zabaneh D., Fatemifar G., Luan J., Wareham N.J., Scott R.A., Perry J.R.B., Langenberg C., Benzeval M., Kumari M., Zeggini E. Genome-wide analysis of health-related biomarkers in the UK Household Longitudinal Study reveals novel associations. *Sci Rep*. 2017; 7 (1): 11008. DOI: 10.1038/s41598-017-10812-1. PMID: 28887542; PMCID: PMC5591265.
19. Giambattistelli F., Buccossi S., Salustri C., Panetta V., Mariani S., Siotto M., Ventriglia M., Vernieri F., Dell'acqua M.L., Casetta E., Rossini P.M., Squitti R. Effects of hemochromatosis and transferrin gene mutations on iron dyshomeostasis, liver dysfunction and on the risk of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2012; 33 (8): 1633–41. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.03.005. PMID: 21514009.
20. Valenti L., Al-Serri A., Daly A.K., Galmozzi E., Rametta R., Dongiovanni P., Nobili V., Mazzi E., Roviato G., Vanni E., Bugianesi E., Maggioni M., Fracanzani A.L., Fargion S., Day C.P. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponitrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010; 51 (4): 1209–17. DOI: 10.1002/hep.23622. PMID: 20373368.
21. Hamesch K., Mandorfer M., Pereira V.M., Moeller L.S., Pons M., Dolman G.E., Reichert M.C., Schneider C.V., Waditsch V., Voss J., Lindhauer C., Fromme M., Spivak I., Guldikken N., Zhou B., Arslanov A., Schaefer B., Zoller H., Aigner E., Reiberger T., Wetzel M., Siegmund B., Simoes C., Gaspar R., Maia L., Costa D., Bento-Miranda M., van Helden J., Yagmur E., Bzdok D., Stolk J., Gleiber W., Krippl V., Windisch W., Mahadeva R., Bals R., Koczulla R., Barreche-guren M., Miravittles M., Janciaschiene S., Sticke F., Lammert F., Liberal R., Genesca J., Griffiths W.J., Trauner M., Krag A., Trautwein C., Strnad P. European Alpha-1-Liver Study Group. Liver Fibrosis and Metabolic Alterations in Adults With alpha-1-antitrypsin Deficiency Caused by the Pi*ZZ Mutation. *Gastroenterology*. 2019; 157 (3): 705–19. e18. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.05.013. PMID: 31121167.
22. Ye Q., Qian B.X., Yin W.L., Wang F.M., Han T. Association between the HFE C282Y, H63D Polymorphisms and the Risks of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of 5,758 Cases and 14,741 Controls. *PLoS One*. 2016; 11 (9): 0163423. DOI: 10.1371/journal.pone.0163423. PMID: 27657935; PMCID: PMC5033482.
23. Singal A.G., Manjunath H., Yopp A.C., Beg M.S., Marrero J.A., Gopal P., Waljee A.K. The effect of *PNPLA3* on fibrosis progression and development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol*. 2014; 109 (3): 325–34. DOI: 10.1038/ajg.2013.476. PMID: 24445574; PMCID: PMC5610970.
24. Strnad P., Buch S., Hamesch K., Fischer J., Rosendahl J., Schmelz R., Brueckner S., Brosch M., Helmes C.V., Woditsch V., Scholten D., Nischalke H.D., Janciaschiene S., Mandorfer M., Trauner M., Way M.J., McQuillin A., Reichert M.C., Krawczyk M., Casper M., Lammert F., Braun F., von Schöneck W., Hinz S., Burmeister G., Hellerbrand C., Teufel A., Feldman A., Schattnerberg J.M., Bantel H., Pathil A., Demir M., Kluge J., Boettler T., Rillingham M., Wodarz N., Soyka M., Rietschel M., Kiefer F., Weber T., Marhenke S., Vogel A., Hinrichsen H., Canbay A., Schlattjan M., Sosnowsky K., Sarrazin C., von Felden J., Geier A., Deltjen P., Sipos B., Schafmayer C., Nothnagel M., Aigner E., Datz C., Sticke F., Morgan M.Y., Hampe J., Berg T., Trautwein C. Heterozygous carriage of the alpha-1-antitrypsin Pi*Z variant increases the risk to develop liver cirrhosis. *Gut*. 2019; 68 (6): 1099–107. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-136228. PMID: 30068662.
25. Valenti L., Fracanzani A.L., Dongiovanni P., Bugianesi E., Marchesini G., Manzini P., Vanni E., Fargion S. Iron depletion by phlebotomy improves insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia: evidence from a case-control study. *Am. J. Gastroenterol*. 2007; 102 (6): 1251–8. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01192.x. PMID: 17391316.

Поступила 14 сентября 2020 г.

Для цитирования: Сидоренко Д.В., Назаров В.Д., Лапин С.В., Эмануэль В.Л., Райхельсон К.Л., Ковязина В.П. Влияние полиморфизмов генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* на течение неалкогольной жировой болезни печени. *Молекулярная медицина*. 2021; 19 (3): 58–64. <https://doi.org/10.29296/24999490-2021-03-09>

For citation: Sidorenko D.V., Nazarov V.D., Lapin S.V., Emanuel V.L., Raikhelson K.L., Kovyazina V.P. Effect of *PNPLA3*, *SERPINA1* and *HFE* genes polymorphisms on the course of nonalcoholic fatty liver disease. *Molekulyarnaya meditsina*. 2021; 19 (3): 58–64 (in Russian). <https://doi.org/10.29296/24999490-2021-03-09>