

Краткое изложение содержания работы. Жировая дистрофия печени (ЖДП) является одной из наиболее приоритетных и социально-значимых проблем как педиатрии, так и терапии. Это обусловлено в первую очередь высокой распространенностью и прогрессирующим течением данного заболевания. Ранние осложнения проявляются симптомокомплексом, в который входят задержка темпов физического и полового развития и хроническое нарушение функции печени с формированием жировой дистрофии.

Примерами патологии печени метаболического и токсического генеза являются неалкогольная (НАЖБП), алкогольная жировая болезни печени (АЖБП), жировая болезнь печени смешанного генеза (СЖБП), холестерин-индуцированная жировая болезнь печени (ХЖБП). Согласно современным рандомизированным исследованиям, частота развития этих патологий неуклонно растет с каждым годом: распространенность АЖБП достаточно высока и составляет 25-40% среди взрослого населения России; каждый третий пациент терапевта страдает НАЖБП [Лазебник Л. Б., Голованова Е. В., Туркина С. В. и др. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;185(1): 4–52].

В свою очередь, печеночная недостаточность различной этиологии является фактором риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Эндотелиальная дисфункция может быть связующим звеном между печеночной недостаточностью и патологией сердечно-сосудистой системы.

Была проведена оценка экономической стоимости ожирения и ЖДП в Российской Федерации [Третьяков А.А., Китанина К.Ю., Хадарцев А.А. Зависимость экономических потерь от нездорового питания // Вестн. новых мед. технологий. Электронное издание. 2022. No 5. С. 128-134. URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-5/e2018-5.pdf>]. Авторы рассчитали стоимость прямых издержек государства, непосредственно связанные с лечением коморбидных с ЖДП состояний. По данным исследования,

ежегодно прямые затраты государства на пациентов с инсультом составляют около 71 млрд руб., с инфарктом миокарда – около 36 млрд, с сахарным диабетом 2 типа – около 407 млрд руб. [Крысанова В.С., Журавлева М.В., Дралова О.В. и др. Проблема ожирения и избыточной массы тела в Российской Федерации и ее фармакоэкономическая оценка // Альманах клин. мед. 2015. Февраль, спецвып. 1. С. 36–41]. По этой причине в настоящее время исследование причин и патогенетических механизмов ЖДП является чрезвычайно важным.

В настоящее время, в виду отсутствия четкого понимания причин и механизмов развития гепатопатий неинфекционного генеза, нет эффективных методов профилактики и лечения этих состояний. Ключевую роль в изучении этиологии и патогенеза играет поиск адекватных экспериментальных моделей печеночной недостаточности.

Основная научно-техническая идея. Биомоделирование дает исследователю неограниченные возможности изучения причин болезни, поскольку есть прямая связь между действующим причинным фактором и развивающейся патологией. Объект исследования: 100 самцов альбиносов серых крыс Wistar.

Цель: выявить и сравнить патологические изменения у лабораторных крыс при моделировании жировой болезни печени различного генеза.

Задачи: 1. Осуществить моделирование основных форм жировой дистрофии печени: алкогольного, неалкогольного и смешанного генеза.

2. Оценить степень выраженности клинических и лабораторных изменений в экспериментальных группах.

3. Произвести фармакологическую коррекцию развившихся патологий.

Материалы и методы. Исследование проведено на 100 крысах самцах линии Wistar с массой тела на момент включения в исследование 250–300 г на базе научно-исследовательской лаборатории кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский

государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

План исследования, стандартизированные операционные процедуры и сопроводительная документация прошли этическую экспертизу Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол №09/04 от 11.02.2022).

Всего было сформировано 5 групп лабораторных животных:

1. «Контроль» (n=20) — здоровые, интактные крысы, у которых исследовали параметры метаболизма для расчета фоновых, референсных значений («нормальные показатели»).

2. «НАЖБП» (n=20) — крысы, которые на протяжении всего эксперимента в качестве корма получали брикеты, содержащие пищевые компоненты в следующих соотношениях (по массе): 26% — белок, 10% — животный жир, 50% — фруктоза, 8% — целлюлоза, 5% — минеральные вещества, 1% — витамины [Ackerman Z. Fructose-Induced Fatty Liver Disease Hepatic Effects of Blood Pressure and Plasma Triglyceride Reduction. Hypertension. – 2005. – Vol. 45. – P. 1012-1018].

3. «АБП» (n=20) - крысы, которые на протяжении всего эксперимента вместо питьевой воды получали 15%-ый раствор этанола.

4. «СЖБП» (n=20) – крысы, которые на протяжении всего эксперимента получали гиперкалорийную диету, на 30% насыщенную фруктозой и вместо питьевой воды 10%-ый раствор этанола [Брус Т.В., Васильев А.Г., Трашков А.П. и др. Способ моделирования жировой болезни печени смешанного генеза у крыс. Патент 2757199. Российская Федерация МПК А61D 99/00, G09B 23/28, C13K 11/00. - № 2020139933; заявл. 03.12.2020, опубл. 12.10.2021, Бюл. №29].

5. «ХЖБП» (n=20) – крысы, которые на протяжении всего эксперимента получали гиперкалорийную диету, на 45% состоявшую из животного жира.

Ограничения в питьевом режиме, условия гиподинамии не вводились. Длительность эксперимента составила 30 суток.

С целью оценки метаболических нарушений у экспериментальных животных оценивали: биохимические показатели (активность ферментов щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ)). Биохимическое исследование сыворотки крови лабораторных крыс выполнено с помощью анализатора StatFax 3300. Для выявления маркеров эндотелиальной дисфункции и системного воспаления исследованы уровни ЭТ-1, ИЛ-1, ИЛ-6, С-реактивного белка (СРБ), фактора некроза опухоли ФНО- α) с помощью иммуноферментного анализа. Для статистической обработки и анализа полученных результатов применялись пакеты Microsoft Office 2010 и STATISTICA 10.0.

Описание результатов и их значение для практики. Во всех экспериментальных группах регистрировался синдром цитолиза гепатоцитов разной степени выраженности: так уровень АЛТ и АСТ был максимально велик в группе СЖДП и составил соответственно $55,2 \pm 1,37$ Ед/л и $145,5 \pm 2,3$ Ед/л (рис.1).

Степень холестатического синдрома определялась по уровню ЩФ. Рост уровня этого фермента был достоверным во всех группах с ЖДП, наиболее выраженные изменения по сравнению с группой Контроль были выявлены в группе СЖБП ($33,5 \pm 1,5$ Ед/л) (рис.1).

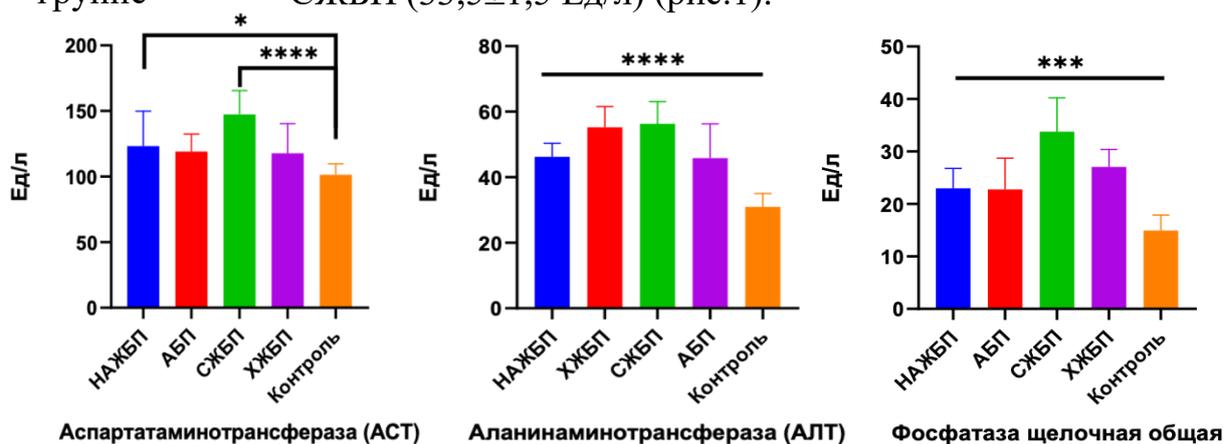


Рисунок 1. Изменение концентрации основных биохимических маркеров печени (АСТ, АЛТ, ЩФ) в сыворотке крови крыс экспериментальных групп.

Примечание: * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,0003$, **** – $p < 0,0001$, в сравнении с группой «Контроль».

В экспериментальных группах оценивали уровень ЭТ-1 для диагностики возможно развившейся эндотелиальной дисфункции. Достоверное повышение

этого показателя в сыворотке лабораторных крыс было выявлено в группах АБП, СЖБП, ХЖБП по сравнению с контролем. Самый высокий уровень ЭТ-1 регистрировался в группе СЖБП и составил $57,1 \pm 1,5$ пг/мл.

Для выявления степени системного воспалительного ответа в плазме крови определяли уровень провоспалительных цитокинов: СРБ, ФНО, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 (рис. 2).

Максимально выраженный рост уровня СРБ регистрировался в группе СЖБП ($12,7 \pm 0,5$ нг/мл). Однако уровень ФНО был самым высоким в группе ХЖБП ($39,7 \pm 1,15$ пг/мл). Достоверно высокий уровень ИЛ-1 был выявлен в группах АБП ($11,1 \pm 1,7$) и СЖБП ($10,2 \pm 1,75$ пг/мл). ИЛ-2 был максимально высоким в группе СЖБП и составил $30 \pm 2,25$ пг/мл. Уровень ИЛ-6 был достоверно выше в группах НАЖБП ($12,1 \pm 0,56$ пг/мл) и СЖБП ($10,11 \pm 1,16$ пг/мл) по сравнению с контролем.

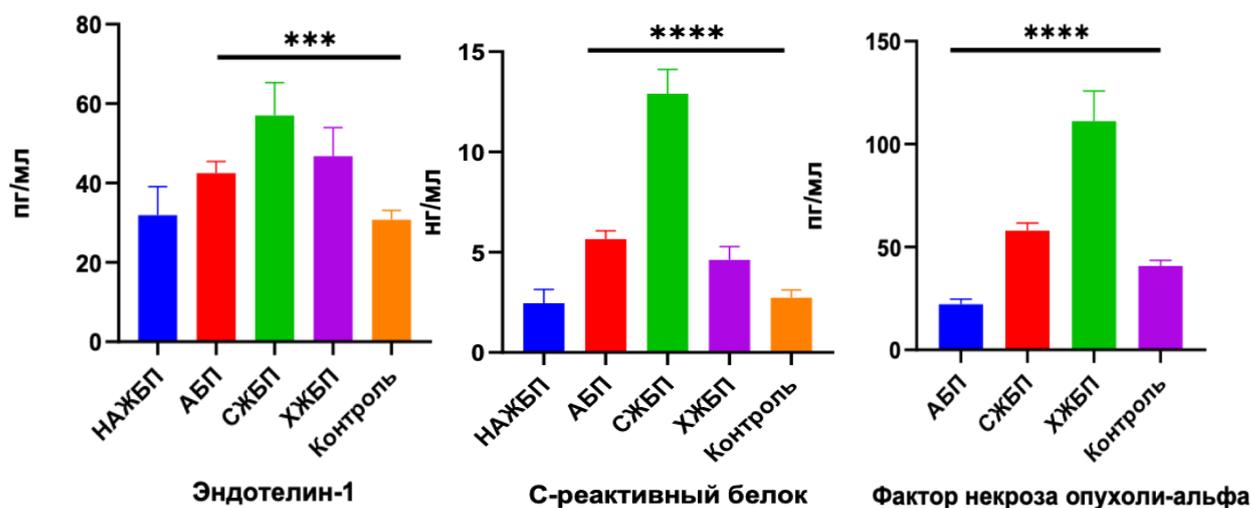
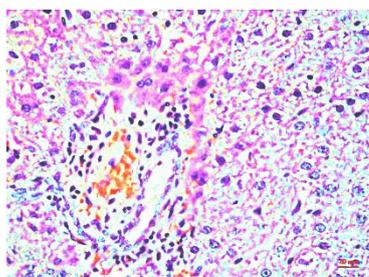


Рисунок 2. Изменение концентрации ЭТ-1, СРБ, ФНО-а в сыворотке крови крыс экспериментальных групп.

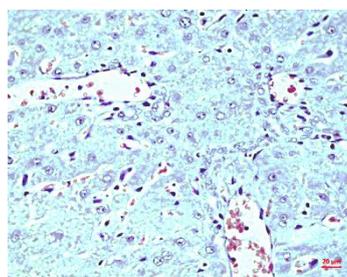
Примечание: *** – $p < 0,0003$, **** – $p < 0,0001$, в сравнении с группой «Контроль».

Для оценки гистологических изменений произведена аутопсия фрагментов печени для дальнейшей окраски гематоксилин-эозином.

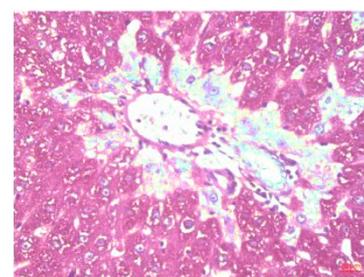
В группе НАЖБП регистрировались умеренная инфильтрация воспалительными клетками, полнокровие сосудов, умеренная пролиферация фибробластов. В группе АБП отмечается более выраженная воспалительная инфильтрация, разрастание соединительно-тканых волокон. На макропрепарате печень у животных этой группы имела минимальные размеры и массу. В группе ХЖБП отмечается наиболее выраженная по сравнению с другими группами жировая инфильтрация гепатоцитов (в основном, крупнокапельная жировая дистрофия). Воспалительные и фибротические изменения выражены минимально. В группе СЖБП максимально выражена воспалительная инфильтрация, разрастание волокон коллагена, углеводная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (рис. 3).



НАЖБП



АБП



СЖБП

Рисунок 3. Гистологические изменения в аутоптатах печени крыс экспериментальных групп (окраска гематоксилин-эозин, x40)

Обсуждение. Сочетание алкогольного и метаболического факторов предполагает более высокий повреждающий потенциал: усиление таких патогенетических механизмов, как системная воспалительная реакция, инсулинорезистентность, оксидативный стресс [Cеровић I., et al. Alcoholic liver disease/nonalcoholic fatty liver disease index: distinguishing alcoholic from nonalcoholic fatty liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2013 Aug;25(8):899–904].

В 2020 году Международная группа экспертов, выступила с предложением изменить терминологию НАЖБП на более точно отражающую патогенез с целью улучшения стратификации пациентов.

По мнению экспертов, применение в качестве основного диагностического критерия НАЖБП отсутствия значительного употребления алкоголя в анамнезе на практике крайне затруднительно. Это связано с методологическими проблемами в вопросниках, используемых для оценки употребления алкоголя, склонностью пациентов его занижать. Включение в название акронима «неалкогольный» часто вызывает недопонимание у пациентов, не употребляющих алкоголь и расценивающих этот диагноз в инверсии. Предпочтение отдано дефиниции «метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЖБП/MAFLD) [Eslam M, Newsome PN, Anstee QM, et al. A new definition for metabolic associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. *Journal of Hepatology*. (2020), DOI: 10.1016/j.jhep.2020.03.039].

Накопленные данные свидетельствуют о том, что сердечно-сосудистые заболевания чаще определяют исход у пациентов с жировой болезнью печени. При НАЖБП повышается риск тромбообразования, проатерогенной дислипидемии, гиперкоагуляции и гипофибринолиза [Martínez Coria A, Estrada-Cruz NA, Ordoñez MIP, Montes-Cortes DH, Manuel-Apolinar L. Echography analysis of musculoskeletal, heart and liver alterations associated with endothelial dysfunction in obese rats. *BMC Endocr Disord*. 2020 Aug 14;20(1):124. DOI: 10.1186/s12902-020-00603-7].

Систематический обзор и мета-анализ 7-ми перекрестных исследований (с участием в общей сложности 3497 человек) подтвердил, что НАЖБП, диагностированная при ультразвуковом исследовании, тесно связана с увеличением распространенности атеросклеротических бляшек в сонных артериях [Lee Y.J., Shim J.Y., Moon B.S., et al. The relationship between arterial stiffness and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2012; 57:196–203.]. Некоторые исследования, подтвердили, что повышенный уровень АЛТ в сыворотке крови является достоверным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, т. к. является маркером не только жировой болезни печени, но и окислительного стресса [Sookoian S., Pirola C.J. Non-alcoholic fatty liver disease

is strongly associated with carotid atherosclerosis: a systematic review. *J Hepatol.* 2008; 49:600–7].

Выводы. 1. Моделирование ЖДП различной этиологии приводит к развитию нарушений со стороны органов гепатобилиарной, эндокринной и сердечно-сосудистой систем.

2. Степень выраженность этих повреждений зависела от методики моделирования патологического процесса и была максимальной в группах животных, получавших корм с добавлением фруктозы и этанола (СЖБП) и незначительной – в группах животных, получавших только фруктозу и в меньшем проценте по массе (ХЖБП). Предложенные способы моделирования являются адекватными для экстраполяции результатов на организм человека, благодаря отражению всех звеньев исследуемой патологии в достаточно короткие сроки: формирование гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии, инсулинорезистентности, развитию метаболического синдрома.

3. Изучение дезинтоксикационных и гепатопротекторных свойств изучаемых препаратов при моделировании жировой дистрофии печени на основании отдельных биохимических свойств сыворотки крови позволяет заключить, что лецитин и метформин обладает дезинтоксикационным и гепатопротекторным эффектами, способностью купировать некоторые явления холестатического и цитолитического синдромов.

4. Одной из возможностей снижения преждевременной смертности и ведения активного социально-экономического образа жизни для людей, имеющих ЖДП и коморбидные состояния является изучение патогенетических взаимодействий между компонентами метаболического синдрома и эндотелиальной дисфункцией на экспериментальных моделях. Это способствует разработке комплекса лечебно-профилактических мер, направленных на лечение и предотвращение распространения этих социально-значимых заболеваний.

5. Проведен детальный анализ развившихся форм ЖДП по более чем 30-ти лабораторным показателям, что позволяет верифицировать диагноз и степень ЖДП без привлечения инвазивных процедур (биопсия). Это существенно повышает качество медицинской помощи и продолжительность жизни пациентов с ЖДП. Своевременная постановка диагноза согласно именно неинвазивным гематологическим и лабораторным изменениям при различных формах ЖДП и их фармакологическая коррекция открывает новые перспективы в лечении данной патологии. В настоящее время акцент следует делать на устранение этиологических, патогенетических факторов, вызвавших жировую дистрофию и модификацию образа жизни, использовать препараты, доказавшие эффективность при отдельных вариантах ЖДП, и симптоматическую терапию.

Объемы внедрения. Результаты научной работы внедрены в учебный процесс кафедры патологии Медицинского института Санкт-Петербургского государственного университета и кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии Санкт-Петербургского педиатрического медицинского университета при изучении дисциплин «Патофизиология», «Клиническая патофизиология», преподаваемым студентам 3 курса.

Достигнут социальный эффект: повышение уровня и качества преподавания студентам медицинских ВУЗов.

Достигнут экономический эффект: существенное повышение уровня организации медицинской помощи и качества жизни пациентов с ЖДП различного генеза гастроэнтерологического отделения Киники Санкт-Петербургского педиатрического медицинского университета.

Применение предложенных экспериментальных моделей в ФГБУ Санкт-Петербургском научно-исследовательском институте фтизиопульмонологии Минздрава РФ открывает широкие перспективы в изучении механизма повреждения гепатоцитов при туберкулезе и гепатотоксичности противотуберкулёзных препаратов, что в перспективе повысит качество жизни пациентов с туберкулезом.