

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ ИМЕНИ  
А.Л. МЯСНИКОВА ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР КАРДИОЛОГИИ» МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*



Ширяев Григорий Андреевич

**Применение магнитно-резонансной спектроскопии в диагностике стеатоза  
печени в рамках метаболического синдрома и стеатогепатита**

14.01.13 – Лучевая диагностика, лучевая терапия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель**

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Терновой Сергей Константинович

Москва – 2021

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
1.1. Общая характеристика неалкогольной жировой болезни печени .....	11
1.2. Эпидемиология неалкогольной жировой болезни печени.....	12
1.3. Этиология и патогенетические особенности неалкогольной жировой болезни печени .....	15
1.3.1. Антиоксидантная система и окислительный стресс при неалкогольной жировой болезни печени.....	17
1.3.2. Клиническая картина неалкогольной жировой болезни печени.....	19
1.4. Диагностика неалкогольной жировой болезни печени.....	20
1.4.1. Биохимическое исследование крови .....	22
1.4.2. Пункционная биопсия.....	23
1.4.3. Ультразвуковое исследование .....	24
1.4.4. Сочетанные подходы .....	26
1.4.5. Компьютерная томография .....	27
1.4.6. Магнитно-резонансная томография .....	28
1.5. Магнитно-резонансная спектроскопия и ее роль в диагностике неалкогольной жировой болезни печени.....	32
1.6. Основные направления в лечении неалкогольной жировой болезни печени .....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	39
2.1. Критерии отбора и общая характеристика группы пациентов.....	39
2.2. Дизайн исследования .....	41
2.3. Ультразвуковое обследование печени .....	42
2.4. Биохимическое исследование крови пациентов .....	43
2.5. Пункционная биопсия печени.....	44
2.6. Компьютерная томография брюшной полости.....	46
2.7. Магнитно-резонансная томография брюшной полости.....	48

2.8. Протонная магнитно-резонансная спектроскопия печени .....	52
2.9. Статистическая обработка данных.....	56
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	57
3.1. Формирование групп пациентов.....	57
3.2. Оптимизация методики магнитно-резонансной спектроскопии по водороду .....	61
3.2.1. Проверка воспроизводимости методики .....	61
3.2.2. Оптимизация методики синхронизации по дыханию .....	64
3.3. Оценка точности метода протонной магнитно-резонансной спектроскопии .....	65
3.4. Результаты магнитно-резонансной спектроскопии в группе пациентов со стеатозом печени .....	67
3.5. Результаты магнитно-резонансной спектроскопии в группе пациентов с неалкогольным стеатогепатитом .....	72
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	77
ВЫВОДЫ .....	87
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	88
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	89
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	90

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

На протяжении последних десятилетий в мире наблюдается устойчивый рост количества пациентов с метаболическим синдромом, сахарным диабетом второго типа, ожирением. Согласно статистическим данным, в развитых странах эти заболевания диагностируются у 20-30% взрослого населения. Отмечается прямая связь ожирения с развитием неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) [1,2]. В частности, более чем у половины пациентов с НАЖБП обнаруживают метаболический синдром. Метаболический синдром ассоциируется с высоким риском развития атеросклероза и ишемической болезни сердца [2,3]. НАЖБП встречается во всех возрастных группах, но наибольшему риску ее развития подвержены женщины в возрасте 40–60 лет.

Основным методом диагностики и оценки тяжести поражения печени при НАЖБП является биопсия [4]. Инвазивность, высокий риск осложнений, малый объем исследуемого материала, возможность различной и неоднозначной трактовки результатов и необходимость оценки в динамике ограничивают применение биопсии печени. В связи с этим поиск других альтернативных и неинвазивных методов оценки стеатоза печени представляет большую актуальность.

В настоящее время активно изучаются лучевые методы исследования, в том числе и протонная магнитно-резонансная спектроскопия (МРС), в оценке содержания жира в ткани печени. Протонная МРС используется, в первую очередь, для диагностики онкологических заболеваний, однако, в последнее десятилетие обсуждают ее использование при заболеваниях печени [5]. В отличие от компьютерной томографии и ультразвуковых методов, высокая чувствительность протонной МРС позволяет выявить даже незначительные изменения содержания жира в ткани [6]. При НАЖБП содержание жира в ткани печени заметно варьирует, и, как правило, коррелирует с тяжестью поражения

органа. Оценка содержания жира в ткани печени играет важную роль в диагностике и оценке эффективности лечения НАЖБП.

В практике отечественного здравоохранения методика протонной МРС по водороду для исследования печени до настоящего времени не применялась; целый ряд методических и технических вопросов остаются неизученными. В доступных научных публикациях отсутствуют данные о неинвазивных количественных подходах, позволяющих оценить эффективность лечения НАЖБП принятыми в мировой практике методами.

### **Степень разработанности темы исследования**

Автором были обследованы 70 пациентов с НАЖБП в стадии стеатоза печени и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). Подход с двукратным применением МРС до начала лечения и в шестимесячный срок после начала соответствует целям и задачам исследования. Выводы и практические рекомендации автора основаны на результате комплексного подхода к диагностике и оценке степени жировой инфильтрации методикой МРС. Достоверность и обоснованность результатов исследования основана на рациональном дизайне исследования, адекватных, соответственно эпидемиологии заболевания, группах клинических наблюдений. Достоверность результатов подтверждена с помощью современных инструментов статистического анализа. Первичная документация проверена.

### **Цель исследования**

Определить возможности использования протонной МРС в диагностике и оценке терапии неалкогольной жировой болезни печени.

### **Задачи исследования**

1. Оптимизировать методику оценки содержания жира в печени в норме и при жировой инфильтрации методом протонной МРС.
2. Оценить информативность и достоверность методики протонной МРС печени у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и неалкогольным стеатогепатитом в сравнении с клинико-лабораторными данными, инструментальными исследованиям и морфологическими данными.
3. Изучить с помощью протонной МРС динамику изменений содержания жира в печени при лечении стеатоза и неалкогольного стеатогепатита.
4. Определить место протонной МРС в динамическом наблюдении пациентов со стеатозом печени и стеатогепатитом.

### **Научная новизна**

Научная новизна работы состоит в оптимизации и стандартизации методики протонной МРС печени, с использованием многоступенчатого подхода, которая позволяет получать воспроизводимые и повторяемые результаты. Устойчивость получаемых результатов позволила сделать вывод о целесообразности применения одновоксельной спектроскопии с триггерной дыхательной регистрацией для повторных исследований при мониторинговании эффективности лечебных мероприятий. Впервые количественно неинвазивно оценена динамика изменения содержания жира в печени у пациентов с жировой инфильтрацией. Это дало возможность определить роль методики протонной МРС печени в оценке динамики выраженности стеатоза печени и, соответственно, динамики течения НАЖБП.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные в исследовании данные о высокой воспроизводимости методики протонной МРС печени в определении содержания жира позволяют использовать эту методику в оценке динамики НАЖБП в клинической практике.

Адекватная количественная оценка результатов и эффективности лечения пациентов с НАЖБП и НАСГ с помощью протонной МРС может дать возможность адекватно корректировать лечебные подходы у отдельных пациентов.

Продемонстрированы преимущества методики протонной МРС печени по сравнению с ультразвуковым исследованием и компьютерной томографией в динамическом наблюдении пациентов, выражающиеся в возможности получения воспроизводимых и повторяемых данных о количественном содержании жира в паренхиме печени, коррелирующих с морфологическим исследованием.

Полученные результаты могут создать научную основу для использования протонной МРС, как альтернативы биопсии печени, при исследованиях эффективности различных методов лечения пациентов с НАЖБП.

## **Методология и методы исследования**

В исследование включены пациенты, которым за период октябрь 2011 года и июнь 2014 выполнялись морфологическое исследование печени, ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости, компьютерная томография (КТ) органов брюшной полости на базе отдела томографии ИКК им. А.Л. Мясникова ФГБУ РКНПК МЗ РФ и клиники. Пациенты с отсутствием признаков жировой инфильтрации печени были исключены из исследования. Содержание жира в печени пациентов оценивалось методом протонной МРС. Спектральный воксель располагался в паренхиме печени, учитывая расположение крупных сосудов и протоков на 5 мм срезах T2-взвешенных изображений в 3-х перпендикулярных плоскостях, с учетом распределения жира в печени на T1-взвешенных

изображениях «в противофазе». Обработка спектров проводилась на рабочей консоли томографа Phillips Achieva 3 тесла в стандартной программе фирмы Philips – SpektroView. Расчет содержания жира выполнялся с помощью сопоставления площадей под кривой пиков воды и сумма площадей под кривыми пиков жира на 0,9, 1,3 и 2,0 ppm. Была проведена оценка воспроизводимости и повторяемости методики протонной МРС печени. Оценен уровень корреляции между содержанием жира в печени, полученным методом МРС и морфологическим исследованием, коэффициент корреляции между значениями, полученными двумя методами, рассчитывался по методу Спирмена для непараметрических критериев ( $r$  – коэффициент корреляции).

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Показано, что методика одновоксельной протонной МРС печени с дыхательным триггером регистрации спектров и аппаратной T2 коррекцией позволяет достоверно оценить содержание жира в печени.
2. Протонная МРС является высокоинформативной неинвазивной методикой количественного определения содержания жира в печени у пациентов с НАЖБП и хорошо соотносится с клинико-лабораторными данными и результатами биопсии.
3. МР-спектроскопические исследования печени продемонстрировали нормализацию или значительное достоверное снижение содержания жира в печени у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, которые в течение 6 месяцев применяли гипокалорийную диету, дозированные физические нагрузки со снижением веса на 5-10%, а также фосфолипидные гепатопротекторы.
4. С помощью протонной МРС печени показано, что у пациентов с НАСГ при использовании в течение 6 месяцев на фоне медикаментозной терапии в сочетании с гиполипидемической диетой достоверного снижения количества жира в печени не было выявлено.



## **Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность полученных результатов определяется объемом выборки, постановкой цели и задач, критериями включения пациентов в исследование, использованием современных лучевых диагностических методов, применением статистических методов обработки, соответствующих поставленным задачам.

Материалы диссертации были представлены и обсуждены: на Невском радиологическом форуме (Санкт-Петербург, 2013 г), European Congress of Radiology (Vienna, 2013).

Утверждение темы диссертации состоялась в октябре 2021 г. на Ученом совете НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Результаты исследования внедрены в клиническую и научную практики отдела томографии НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ НМИЦ кардиологии МЗ РФ. Апробация работы проведена 21 декабря 2021 г. на заседании апробационной комиссии НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

## **Публикации**

По результатам исследования автором опубликовано 10 работ, в том числе научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук – 2 (из них 1 – обзорная); статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus – 2; кроме того по теме

диссертации опубликовано 3 клинических случая, при этом 2 из них – входящие в МБД Scopus; публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций – 3.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Выполненное диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 14.01.13 – «Лучевая диагностика, лучевая терапия» (отрасли наук – биологические науки, медицинские науки), а также п. N 1 «Лучевая диагностика: диагностика патологических состояний различных органов и систем человека путем формирования и изучения изображений в различных физических полях (электромагнитных, корпускулярных, ультразвуковых и др.)» и п. N 3 «Область применения: диагностика любых заболеваний».

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 105 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и списка сокращений. Представленный материал иллюстрирован 13 рисунками, 5 таблицами, 11 графиками. Список литературы включает 140 источника, из них 33 русскоязычных и 107 англоязычных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Общая характеристика неалкогольной жировой болезни печени

НАЖБП – нозологическая единица, включающая в себя спектр морфологических изменений паренхимы печени: стеатоз (жировая дистрофия), НАСГ, цирроз печени [2,7]. Ведущими этиологическими факторами НАЖБП считают метаболический синдром (МС) и его компоненты [8]. НАЖБП является результатом различных комбинаций метаболических факторов риска: абдоминального ожирения, повышения уровня триглицеридов (ТГ), снижения уровня холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), повышения содержания мочевой кислоты, нарушения толерантности к глюкозе, развития сахарного диабета (СД) 2-го типа, артериальной гипертензии и инсулинорезистентности; прямое токсическое воздействие различных веществ на печень, кроме этанола [9].

Одно из самых распространенных морфологических изменений паренхимы печени – жировая дистрофия или инфильтрация печени. Этот термин характеризует состояние избыточного накопления триглицеридов (ТГ) в цитоплазме гепатоцитов (более 5% от массы печени) [2].

НАСГ – хроническое диффузное заболевание печени, которое сопровождается изменениями паренхимы органа в виде жировой инфильтрации, с формированием множественных некрозов и воспаления в ткани органа с развитием последовательных стадий фиброза печени и, на последнем этапе, переходящее в цирроз печени. Термин НАСГ был впервые введен в 1980 г. [10], при изучении изменений в печени пациентов с ожирением и СД 2-го типа, в анамнезе которых не было данных о приеме алкоголя в гепатотоксических дозах, однако при морфологическом исследовании ткани печени были выявлены признаки характерные для алкогольной болезни [11]. Сочетание признаков жировой дистрофии с лобулярным гепатитом и отсутствие алкогольного анамнеза позволило предложить для таких случаев термин «неалкогольный стеатогепатит»

[12]. До этого для обозначения подобных изменений в печени использовались термины «псевдоалкогольный гепатит», «стеатонекроз», «гепатит с жировой дистрофией печени» [13].

Для обозначения НАЖБП в клинической практике отсутствует единый код, поэтому для отражения всего спектра изменений наиболее часто используются нижеприведенные коды [14]:

К 73.0 – хронический персистирующий гепатит, не классифицированный в других рубриках.

К 73.9 – хронический гепатит неуточненный.

К 76.0 – жировая дегенерация печени, не классифицированная в других рубриках.

К 74.6 – другой и неуточненный цирроз печени.

Выявление жировой инфильтрации печени является важной задачей в практике каждого рентгенолога и врача ультразвуковой диагностики [15]. Жировую инфильтрацию паренхимы печени в первую очередь следует дифференцировать с жировой дистрофией печени (диффузной, очаговой и смешанной) и жиросодержащими опухолями (редкая патология при данной локализации поражения) [2].

## **1.2. Эпидемиология неалкогольной жировой болезни печени**

Распространенность НАЖБП составляет 14–25% в общей популяции [16], при этом у 10% больных обнаруживаются гистологические признаки НАСГ [17,18]. Ряд исследований, которые проведены в Италии и Японии, показали, что встречаемость жировой дистрофии печени колеблется от 3 до 58% [12,19] Такой диапазон обусловлен социально–экономическими различиями между изучаемыми группами. При этом алкогольный гепатит встречается в 10–15 раз чаще, чем НАСГ [20].

В России до 2007 г отсутствовали данные о распространенности НАЖБП, тогда было проведено многоцентровое рандомизированное проспективное

исследование – DIREG, в ходе которого обследовано более 30 тысяч пациентов, и сформирована картина эпидемиологии заболевания в России [21]. Доказательная база исследования демонстрирует, что распространение НАЖБП является серьезной проблемой в нашей стране и требует самого пристального внимания к диагностике и контролю за лечением. Согласно приведенным данным, 27% всех пациентов, обратившихся к врачам общей практики, был поставлен диагноз НАЖБП. У 80% из них заболевание выявлялось в стадии стеатоза, а 17% страдали НАСГ. Кроме того, было отмечено увеличение частоты встречаемости НАЖБП среди детей: в среднем у 3% общей детской популяции и у 53% детей с ожирением.

НАЖБП в рамках МС не только служит фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, но, как утверждается в ряде исследований, может определять их исход [22]. Есть также основания предполагать, что в России из более чем двух миллионов больных сахарным диабетом второго типа у двух третей имеется НАЖБП [23].

НАЖБП выделяется рядом авторов как печеночный компонент метаболического синдрома и ассоциирована с абдоминально–висцеральным ожирением, периферической инсулинорезистентностью, АГ и дислипидемией [20,24].

ВОЗ сформулировала единое определение МС как сочетание ожирения, гиперлипидемии, гипергликемии (инсулинорезистентность, СД 2 типа) и АГ. Основным признаком метаболического синдрома признают абдоминальное ожирение — объем талии для мужчин  $\geq 94$  см, для женщин  $\geq 80$  см. Для полной верификации метаболического синдрома также необходимо наличие двух из следующих критериев:

- повышение уровня ТГ  $\geq 1,7$  ммоль/л ( $\geq 150$  мг/дл) или нормальный уровень ТГ при приеме соответствующей терапии;
- снижение уровня ХС-ЛПВП  $<1,03$  ммоль/л ( $<40$  мг/дл) для мужчин и  $<1,29$  ммоль/л ( $<50$  мг/дл) для женщин или нормальный уровень ХС-ЛПВП при применении соответствующей терапии;

- артериальное давление  $\geq 130/85$  мм рт. ст. или проводимая антигипертензивная терапия по поводу ранее выявленной АГ;
- повышение уровня глюкозы плазмы крови  $\geq 100$  мг/дл ( $\geq 5,6$  ммоль/л) или наличие ранее диагностированного СД 2-го типа [25].

Повышение индекса массы тела (ИМТ) более  $30 \text{ кг/м}^2$  в 95–100% случаев сопровождается развитием стеатоза печени и в 20–47% – НАСГ [10,26]. СД 2-го типа или нарушение толерантности к глюкозе у 60% пациентов сочетаются с жировой инфильтрацией печени, у 15% – с НАСГ. Нарушение липидного обмена встречается в 20–80% случаев, при этом стеатоз печени чаще сочетается с гипертриглицеридемией, чем с гиперхолестеринемией [20,27].

Отличительной особенностью НАЖБП служит тот факт, что она встречается во всех возрастных группах, но наибольшему риску ее развития подвержены женщины в возрастной категории 40–60 лет с признаками метаболического синдрома [28,29]. Нет четких данных, указывающих на причину большего распространения НАСГ среди женщин: обсуждаются изменения гормонального фона в постменопаузе и более высокая частота ожирения [30].

Чаще всего, заболевание протекает незаметно, часть больных отмечают повышенную утомляемость, неопределенную боль или ощущение тяжести в правом подреберье. У большинства пациентов при осмотре удается обнаружить несколько увеличенную безболезненную печень. Наиболее характерным лабораторным проявлением неалкогольной жировой болезни печени служит незначительное или умеренное повышение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и/или аланинаминотрансфераза (АЛТ) в сыворотке крови, причем это повышение умеренное, как правило, не больше чем в 4 раза от верхней границы нормы. Необходимо оценивать не только абсолютное значение концентрации АЛТ и АСТ, но и их соотношение (АСТ к АЛТ), как правило при НАЖБП не превышает 1,3 [31].

### **1.3. Этиология и патогенетические особенности неалкогольной жировой болезни печени**

В настоящее время не существует общепринятой классификации причин НАЖБП.

В зависимости от этиологических факторов, выявленных при диагностике НАЖБП, большинством авторов выделяется первичный и вторичный стеатоз/стеатогепатит [14,32,33].

Первичный стеатоз/стеатогепатит, обусловлен, в первую очередь, инсулинорезистентностью, во вторую очередь, это генетически обусловленные особенности функционирования антиоксидантной системы печени. Этиологических факторов развития вторичного стеатоза/стеатогепатита выделяют несколько:

1. Токсические повреждения печени:
  - 1.1. Прием лекарственных препаратов: глюкокортикоидов, амиодарона, синтетических эстрогенов, тамоксифена, тетрациклина, НПВП, метотрексата, соматостатина, рифампицина, амитриптилина, нифедипина.
  - 1.2. Влияние химических веществ: мышьяка, хлоронафтадена, тетрахлорид углерода, хлороформа, хрома, дихлордифенилтрихлорэтана, диоксина, свинца, фосфора, тетрахлорэтана и пентахлорэтана.
  - 1.3. Воздействие фитотоксинов и микотоксинов: афлатоксинов, аманицинов и горимитрина.
2. Быстрое уменьшение массы тела (в том числе при неправильно подобранном лечении ожирения).
3. Как осложнение оперативных вмешательств на органах брюшной полости: наложения илеоюнального анастомоза, билиарно–панкреатической стомы, гастропластики для коррекции ожирения, расширенной резекции тонкой кишки [13].
4. Длительное нахождение на парентеральном питании [20].

Исследования показывают, что в России, у пациентов с НАЖБП основными факторами риска являются АГ (69,9%), гиперхолестеринемия (68,8%), абдоминальное ожирение (56,2%) [4]. Частота развития НАЖБП увеличивается с нарастанием количества факторов риска МС. Важную роль в развитии и прогрессировании НАЖБП играет полиморфизм генов, ассоциированных с развитием стеатоза, активностью окисления жирных кислот, окислительным стрессом, экспрессией факторов некроза опухоли альфа [34].

Патогенез стеатоза печени и неалкогольного стеатогепатита изучен не полностью, однако, имеющиеся представления позволили сформировать модель патогенеза НАСГ – теорию «двух ударов» – «two-hits model» [32]. «Первый удар» — это прогрессирующее увеличение ИМТ, дальнейшее развитие стеатоза, связанного с избыточным поступлением в печень свободных жирных кислот (СЖК) как с пищей, так и в результате прямого липолиза из жировой ткани, что приводит к чрезмерному поглощению СЖК гепатоцитами и блокировке их  $\beta$ -окисления. Как следствие этого развивается жировая инфильтрация печени, происходят реакции окисления СЖК и образуются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и реактивные формы кислорода – запускается окислительный стресс [35]. Далее компенсаторная гиперинсулинемия уменьшает синтез аполипопротеина В-100. В ответ на это увеличивается чувствительность печени к агрессивным факторам, происходит разобщение окисления и фосфорилирования под действием свободных жирных кислот, истощение запасов АТФ, нарушение функций митохондрий, воздействие на печень активных форм кислорода – продуктов окислительного (оксидативного) стресса и провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-6 и IL-8). Это и есть «второй удар». На этом этапе происходит трансформация стеатоза в стеатогепатит с последующим развитием соединительной ткани и цирроза печени [22]. Подобное воздействие, в настоящее время, принято называть липотоксичностью или липотоксическим стрессом [7].



### **1.3.1. Антиоксидантная система и окислительный стресс при неалкогольной жировой болезни печени**

Хорошо известно, что антиоксидантная система здорового организма включает в себя ряд ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов. Активность последних регулирует концентрацию свободных форм кислорода, образующихся при различных метаболических реакциях, и поддерживает постоянный баланс антиоксидантной системы в целом [36]. В случае возникновения различных патологий происходит накопление окисленных форм и развивается окислительный стресс. Согласно этой концепции, ключевую роль в повреждении ткани печени играют именно процессы ПОЛ, протекающие с образованием свободных радикалов: супероксидного анион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ), перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) и органических перекисей ( $ROOH$ ); гидроксильных и перекисных радикалов ( $HO^{\cdot}$ ,  $HO_2$ ,  $RO_2^{\cdot}$ ), синглетного кислорода ( $O_2$ ) и ионов  $NO^{2-}$  [37].

Свободные радикалы, хотя и являются в большинстве своем цитотоксическими, в норме важны для функционирования нейтрофилов и макрофагов, синтеза эйкозаноидов, окислительно-восстановительных реакций, регуляции процессов метаболизма, воспаления и иммунитета [35,36]. Нарушение баланса между антиоксидантной и прооксидантной системами организма провоцирует окислительный стресс и приводит к гиперактивации реакций ПОЛ, что в дальнейшем и провоцирует развитие многих патологических процессов, в том числе и НАБЖП. Процессы свободнорадикального окисления приводят к повреждению мембран гепатоцитов, формированию гигантских митохондрий и последующему некрозу клеток. Такая последовательность событий объясняет основную часть наблюдаемых при НАСГ гистологических изменений [38]. При свободнорадикальном окислении появляются биологические молекулы – маркеры окислительного стресса, в частности альдегиды. Альдегиды способны активировать звездчатые клетки (клетки Ито) [39], которые в свою очередь являются основными продуцентами коллагена, а также способны вызывать

перекрестное связывание цитокератинов с формированием телец Мэллори [20,40,41].

Свободные радикалы выделяются в результате активности электрон-транспортной цепи митохондрий, в цитоплазме за счет взаимодействия ксантина и альдегидоксигеназы, в эндоплазматическом ретикулуме при участии цитохромов – CYP2E1 и CYP4A (гидроксилирование длинноцепочечных жирных кислот). Уровень CYP2E1 зависит от ряда факторов: употребления алкоголя, голодания, наличия СД, ожирения и инсулинорезистентности. Поэтому система цитохромов играет одну из ключевых ролей в развитии стеатогепатита [20,42,43].

Контроль концентрации свободных радикалов и частичной ингибирование либо приостановка процесса ПОЛ в организме осуществляется за счет системы глутатиона, включающей в себя сам глутатион и ряд других ферментов: каталазу, глутатионредуктазу, глутатионтрансферазу, глутатионпероксидазу. Этот комплекс и является основной антиоксидантной системой организма в целом [35]. Непосредственно глутатион находится, в основном, в цитозоле клетки, в митохондриях его содержится 9–15 % [44]. Этот трипептид не только защищает клетку от свободных радикалов, но и регулирует окислительно-восстановительный потенциал внутриклеточной среды в целом. Около 90 % глутатиона синтезируется в печени и далее переносится в другие органы и ткани [45]. Нарушение синтеза глутатиона в тканях на клеточном уровне индуцирует ряд серьезных патологических состояний таких как: атеросклероз, СД, НАЖБП, инфаркт миокарда, болезни нервной системы [35,46].

Анализ патогенеза НАСГ показывает, что накопление липидов в гепатоцитах напрямую снижает активность электроннотранспортной цепи митохондрий и стимулирует процессы окисления в пероксисомах и микросомах, а последующее выделение воспалительных цитокинов приводит к развитию воспаления и фиброза печени [47,48]. При исследовании корреляций между уровнем воспалительных цитокинов, метаболизмом железа у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом показано, что железо, аккумулированное в печени, количество воспалительных цитокинов и уровень окислительного стресса взаимосвязаны

[49]. Благодаря этому факту уровень ферритина сыворотки крови, а также концентрации интерлейкины 6 и 8, могут выступать в роли индикаторов при диагностике и исследовании динамики течения НАСГ [35].

Патогенез неалкогольной жировой болезни печени, несмотря на большое количество полученных научных данных, до настоящего времени изучен недостаточно.

### **1.3.2. Клиническая картина неалкогольной жировой болезни печени**

Клиническая картина НАЖБП в большинстве случаев характеризуется бессимптомным течением, поэтому зачастую это заболевание выявляют случайно при лабораторно–инструментальном обследовании. Пациенты со жировой инфильтрацией печени, как правило, не предъявляют жалоб. Симптомы же НАСГ в свою очередь неспецифичны (повышенная утомляемость, слабость, боль в области правого подреберья без четкой связи с едой) и не отражают степень активности воспалительного процесса в паренхиме [41]. Только на стадии цирроза печени появляются яркие симптомы, указывающие на развитие печеночно–клеточной недостаточности и портальной гипертензии: увеличение в размерах живота, отеки, умеренная желтуха, повышенная кровоточивость и т.д. Важной отличительной чертой НАЖБП от других хронических диффузных заболеваний печени является отсутствие кожных проявлений [50]. У больных НАЖБП часто выявляются характерные признаки метаболического синдрома: избыточная масса тела, симптомы нарушения углеводного обмена и АГ. При физическом обследовании выявляют гепатомегалию у 50–75% больных. Размеры и плотность ткани печени отражают степень жировой инфильтрации, выраженность фиброзных изменений и, в конечном итоге, определяют характер прогрессирования заболевания. На стадии сформированного цирроза печени в исходе НАЖБП в 95% случаев выявляется спленомегалия [20,51].

#### 1.4. Диагностика неалкогольной жировой болезни печени

Общепринятыми считают диагностические критерии НАЖБП, определенные Пауэллом [52]:

- морфологические признаки жировой инфильтрации печени или стеатогепатита;
- отсутствие злоупотребления алкоголем;
- отрицательные маркеры вирусных гепатитов.

Широко известны два типа морфологической картины инфильтрации: крупнокапельная и мелкокапельная. Чаще всего встречается крупнокапельная (макроевезикулярная) инфильтрация паренхимы, для которой характерно наличие одной большой вакуоли жира в гепатоците, оттесняющей его ядро к периферии клетки. Реже наблюдается мелкокапельная (микроэвезикулярная) инфильтрация, для которой характерно наличие множества мелких вакуолей жира вокруг ядра гепатоцита, которое сохраняет центральное положение в клетке. На практике в ряде случаев параллельно отмечаются признаки обоих типов инфильтрации. Отмечается также баллонная дистрофия гепатоцитов. Воспалительная реакция, как правило, мягкая, представлена преимущественно внутридольковыми инфильтратами (более выраженными, чем инфильтрация портальных трактов), состоящими из полиморфноядерных лейкоцитов, лимфоцитов и мононуклеарных фагоцитов. Тельца Мэллори обнаруживаются не во всех случаях и в количестве меньшем, чем при алкогольном гепатите [20].

Не установлено достоверной связи между содержанием железа в печени больных НАЖБП и степенью гистологической активности, и стадией фиброза. При выявлении мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов, преобладания портального воспаления и/или фиброза над лобулярным, наличия холангита или пролиферации желчных протоков, признаков веноокклюзионной болезни, диагноз НАСГ сомнителен [35,53].

При НАЖБП на стадии цирроза печени наблюдается значительное уменьшение содержания жира в гепатоцитах при сохранении баллонной

дистрофии. Кроме того, возможно изменение соотношения «лобулярное/портальное воспаление», что значительно затрудняет диагностику НАСГ с исходом в цирроз печени [37].

Для определения специфических маркеров НАЖБП и выявления потенциальных биомаркеров анализировалась плазма крови при НАЖБП и НАСГ [49]. Были обнаружены изменения биохимических показателей, связанных с глутатионом: повышение уровня гликохолата (соль или эфир гликохолевой кислоты), таурохолата и гликогендиоксихолата у пациентов с НАЖБП. Концентрация длинноцепочечных жирных кислот измерялась ниже нормы, концентрация свободного карнитина, бутирилкарнитина и метилбутирилкарнитина – выше. Некоторые глутамилдипептиды повышались, в то время как цистеин-глутатион снижался при стеатозе. Исходя из этого, была статистически определена панель биомаркеров, значимых для людей с НАЖБП, которые потенциально могут использоваться для контроля течения заболевания [54].

До настоящего времени не существует стандартных подходов для диагностики НАЖБП по анализам крови. Решение о проведении тех или иных тестов принимается исходя из клинической картины у каждого отдельного пациента.

В настоящее время для диагностики НАЖБП используют следующие подходы:

- биохимическое исследование крови;
- пункционная биопсия печени;
- УЗИ печени;
- эластография печени;
- КТ печени;
- магнитно – резонансная томография (МРТ) печени;
- протонная МРС.

### 1.4.1. Биохимическое исследование крови

При биохимическом анализе крови у пациентов с НАСГ повышение уровня АЛТ и АСТ – наблюдается в 50–90% случаев; гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) и щелочной фосфатазы (ЩФ) – в 30–60%; повышение билирубина выявляется в 12–17% случаев [20,55].

Как правило, при НАЖБП активность АЛТ и АСТ не превышает верхнюю границу нормы более чем в 4–5 раз. В большинстве случаев активность АЛТ больше, чем АСТ, но на стадии цирроза печени наблюдается преобладание АСТ над АЛТ, при этом соотношение АСТ/АЛТ редко составляет более 2. Степень повышения сывороточных аминотрансфераз не имеет достоверной связи с выраженностью стеатоза и фиброза печени. Повышение активности ЩФ, ГГТП и билирубина, как правило, отмечается не более чем в 2 раза [23]. Хотя было показано, что уровень АЛТ является лучшим единственным биохимическим показателем при НАСГ, уровень этого фермента может быть нормальными у 30–50% пациентов с НАЖБП [56].

При декомпенсации цирроза печени выявляются лабораторные признаки снижения белково–синтетической функции печени: снижение уровней альбумина, холестерина, холинэстеразы и протромбинового индекса.

У 10–25% больных НАЖБП выявляется повышенный уровень гамма–глобулинов и антинуклеарный фактор в различном титре, патогенетическое значение которых в настоящее время не установлено, но, подобные изменения, требует дифференциальной диагностики с аутоиммунным гепатитом в этой группе пациентов.

При НАЖБП у части больных отмечается дислипидемия: гипертриглицеридемия (более 1,7 ммоль/л) и снижение уровня ХС-ЛПВП менее 0,9 ммоль/л у мужчин и менее 1,0 ммоль/л у женщин [20,57].

### 1.4.2. Пункционная биопсия

В настоящее время «золотым стандартом» диагностики НАЖБП считается пункционная биопсия печени, которая проводится с целью оценки, степени жировой инфильтрации органа, степени воспаления паренхимы, стадии и распространенности фиброза печени [2,3,6]. Для морфологической оценки степени активности процесса, степени жировой инфильтрации и стадии фиброза печени у больных НАЖБП используется алгоритм, предложенный в 1999 году E.M. Brunt и модифицированная в 2011 году [20,58,59].

Разработана шкала активности НАЖБП (NAFLD activity score — NAS), которая позволяет оценить степень морфологических изменений в баллах (от 0 до 8). Шкала NAS, которая включает в себя несколько критериев: степень выраженности стеатоза (0–3 балла), выраженность лобулярного воспаления (0–3 балла), проявления баллонной дистрофии гепатоцитов (0–2 балла). При значении суммы равном 0-2 баллам диагноз стеатогепатита исключается, 3-4 балла является пограничным значением, 5-8 баллов – с высокой точностью указывает на наличие НАСГ. Данная шкала дает возможность достоверно оценить динамику морфологических изменений паренхимы печени на фоне лечения [60].

Биопсия печени имеет ряд методических ограничений: объемом биоптата - с помощью нее можно изучить лишь приблизительно 1/50 000 органа, наличием ошибки выборки проб или необъективность анализа. Также известно, что участки жировой инфильтрации и фиброза неравномерно распределены по сегментам печени. Более того, прогрессирование воспаления и фиброза при НАЖБП является динамическим процессом, при котором биопсия печени имеет ограничения для наблюдения за всеми стадиями прогрессирования заболевания [61].

В настоящее время биопсия печени позволяет точно диагностировать НАСГ и признана как методика выбора для определения фиброзных изменений печени (степени жесткости паренхимы органа).

Пункционная биопсия печени является инвазивной процедурой, которая проводится исключительно в госпитальных условиях, имеет ряд противопоказаний и сопряжена с риском осложнений вплоть до летального исхода. Эти ограничения послужили основанием для создания методов неинвазивной оценки хронических диффузных заболеваний печени [62].

### 1.4.3. Ультразвуковое исследование

УЗИ – неинвазивный метод инструментальной диагностики, который используется при первичном УЗИ обследовании пациентов с патологией печени и позволяет выявить гепатомегалию, а также косвенно оценить степень стеатоза печени, определить наличие признаков формирования портальной гипертензии.

Проявления жировой инфильтрации сильно варьируют при проведении УЗИ, в целом макроскопическая картина представлена гиперэхогенными массами с небольшим затуханием сигнала, появлением акустических теней, в связи со свойством жировой ткани ослаблять ультразвук в большей степени, чем нормальная паренхима печени. Основными УЗ-признаками НАЖБП служат: диффузное увеличение «яркости» печеночной паренхимы, при этом эхогенность паренхимы печени превышает эхогенность паренхимы почек; нечеткость сосудистого рисунка и дистальное затухание эхо-сигнала [20]. Тем не менее, у ряда пациентов точно охарактеризовать «яркость» ткани печени затруднительно в связи с тем, что другая патология (например, фиброз печени) также может вызывать появление акустических теней [60]. Поэтому, в большинстве случаев, при использовании стандартного УЗИ как единственного диагностического теста, можно говорить только о фиброзно-жировом изменении органа. Несмотря на недавние достижения в развитии технологии УЗИ: введением техники второй гармоники и появлением новых контрастных препаратов, методик эластографии, УЗИ все еще имеет ограниченные возможности в диагностики как диффузного стеатоза печени, так и очаговых отложений жира в паренхиме, которые, в свою очередь, могут привести к неправильной интерпретации изменений органа [2,64].



Если содержание жира в печени превышает 30%, то метод УЗИ характеризуется высокой диагностической точностью в выявлении НАЖБП: специфичность составляет 89% и чувствительность – 93%. Однако, в отношении различных степеней выраженности стеатоза печени, включая легкую степень, УЗИ не является точным диагностическим методом, а зарегистрированные чувствительность и специфичность для выявления стеатоза легкой и умеренной степеней варьируется в диапазоне от 55,3% до 66,6% и от 77,0% до 93,1% соответственно [65].

Эластография – неинвазивный метод исследования тканей печени, основанный на сканировании паренхимы печени и оценке степени ее эластичности при действии акустических волн, является разновидностью ультразвукового исследования. Характер распространения акустических колебаний зависит от эластичности ткани и позволяет определить диффузную плотность ее структуры. Поскольку фиброзные изменения печени — это патологический процесс, характеризующийся неоднородной плотностью, то при исследовании обнаруживаются морфологически разнообразные очаги с формированием микро- и макронодулярных узлов. Таким образом метод эластографии позволяет выявить наличие и степень выраженности фиброза печени [66].

Неинвазивное определение степени фиброзных изменений печени используется в диагностике хронических заболеваний печени различной природы, в том числе и вызванных вирусами. Метод измерения жесткости печени для оценки фиброза обладает высокой чувствительностью у пациентов с НАЖБП.

По результатам ряда исследований, порядка 1/3 пациентов с жировой инфильтрацией и стеатогепатитом имеют фиброзные изменения органа. Эластографические методики являются стандартным приложением к ультразвуковому исследованию печени, однако зачастую выделяются в отдельное обследование, поскольку требуют больших временных затрат для их выполнения. Однако, благодаря эластографии возможно увеличить частоту выявления пациентов с НАСГ и улучшить прогноз их ведения [67].

Эластография не информативна у пациентов с индексом массы тела (ИМТ) более 30, однако позволяет выявить пациентов с НАСГ по степени фиброза печени [68].

В целом, УЗИ используется для скрининга НАЖБП у пациентов из группы риска, поскольку УЗИ широко доступно. Действительно, УЗИ может обеспечить достаточно высокую диагностическую точность при выявлении умеренной и тяжелой степени стеатоза печени. Однако, точность при выявлении легкой степени стеатоза ограничена и качественный, субъективный характер исследования с наличием меж исследовательской вариабельности являются основными недостатками УЗИ.

#### 1.4.4. Сочетанные подходы

Для верификации НАЖБП разработан ряд неинвазивных диагностических подходов, основанных на сочетании ультразвукового исследования и биохимического анализа крови, которые позволяют оценить степень выраженности воспалительной активности, степень стеатоза и стадию фиброза печени.

Диагностическая панель ФиброМакс, состоящая из 5 расчётных алгоритмов, применяемых на основании результатов математической обработки десяти биохимических показателей крови:  $\alpha 2$  макроглобулина, гаптоглобина, аполипопротеина А1, ГГТ, общего билирубина, АЛТ, АСТ, ТГ, общего холестерина и глюкозы. Панель включает в себя 4 вида тестов для диагностики НАЖБП:

1. ФиброТест используется для оценки наличия и степени фиброза печени и состоит из 5 биохимических показателей:  $\alpha 2$ –макроглобулин, гаптоглобин, аполипопротеин А1, гамма-глутамилтранспептидаза, общий билирубин.
2. АктиТест дает возможность оценить степень выраженности воспалительной реакции в ткани печени и включает перечисленные выше 5 компонентов и дополнительно АЛТ.

3. СтеатоТест дает приблизительную оценку в процентном отношении количественное содержание жировой ткани в печени, т.е. наличие и степень жировой инфильтрации. Тест включает в себя показатели АктиТеста, дополненные глюкозой, триглицеридами, холестерином и данными о весе больного.
4. НэшТест был разработан с целью диагностики НАСГ у больных с избыточной массой тела, резистентностью к инсулину, сахарным диабетом и/или гиперлипидемией. Тест объединяет в себе показатели СтеатоТеста и дополнительно данные об уровне АСТ.

На основании этих биохимических показателей, с учетом пола, возраста, роста и веса пациента, с применением математического анализа рассчитываются индексы, соответствующие степени воспалительной реакции, степени жировой инфильтрации паренхимы печени, стадии фиброза и выраженности НАСГ.

Диагностическая панель СтеатоСкрин представляет собой расчётный алгоритм, основанный на результатах математической обработки десяти биохимических показателей крови:  $\alpha_2$  макроглобулина, гаптоглобина, аполипопротеина А1, ГГТ, общего билирубина, АЛТ, АСТ, ТГ, общего холестерина и глюкозы. Эта методика позволяет оценить риск развития фиброза и выраженность стеатоза печени у больных НАЖБП [20,69,70].

#### **1.4.5. Компьютерная томография**

Другой методикой, позволяющей оценить диффузные и очаговые изменения паренхимы печени, является КТ. При проведении КТ без контрастного усиления диагностика патологии печени проводится на основании сравнения плотностных характеристик нормальной паренхимы органа и пораженных участков (при жировой инфильтрации плотность ткани снижается) [71].

Основными КТ–признаками НАЖБП являются: снижение рентгенологической плотности печени более чем на 3-5 НУ при норме 50–75 НУ; снижение рентгенологической плотности печени по сравнению с

рентгенологической плотностью селезенки; плотность внутрипеченочных сосудов, воротной и нижней полой вен выше плотности печеночной ткани. Сравнение плотности печени и селезенки может помочь в решении вопроса о наличии жировой инфильтрации. В отсутствии патологии плотность паренхимы селезенки на 8-10 HU меньше, чем печени, при наличии выраженной жировой инфильтрации плотность селезенки начинает превышать плотность печени. Этот признак используется при планировании близкородственной трансплантации печени для оценки наличия жировой инфильтрации у донора, что может повышать риск отторжения органа [72].

КТ является информативным методом для обнаружения и характеристики жировой инфильтрации печени, а также очаговых изменений паренхимы, содержащих депозиты жира (например, ангиомиолипомы) [2], но это возможно только при нативном исследовании, поскольку введение йодсодержащего контрастного агента значительно снижает чувствительность метода в выявлении содержания жира в паренхиме [73]. КТ печени позволяет выполнить только косвенную оценку степени жировой инфильтрации, количественная оценка степени инфильтрации представляет сложную задачу.

#### **1.4.6. Магнитно-резонансная томография**

МРТ позволяет легко обнаружить избыточное содержание жира в печени [74].

Сигнал от жировой ткани при МР-исследовании позволяет обнаружить жировой инфильтрации, однако может маскировать другие патологические признаки. Жир МРТ характеризуется очень коротким временем T1 релаксации и поэтому дает высокую интенсивность сигнала на спин-эхо T1-взвешенных последовательностях (спин эхо – это феномен спонтанного возникновения сигнала ядерного магнитного резонанса и электронного парамагнитного резонанса через некоторое время после подачи на образец последовательности радиочастотных импульсов) [75]. Очаги снижения интенсивности сигнала на T1-

взвешенных изображениях могут свидетельствовать о локальном накоплении жира в печени.

Значение времени T2 релаксации жира в спин-эхо последовательностях несколько короче, чем у других тканей, и, следовательно, проявляется низкой или средней интенсивностью сигнала [76]. Выделяют несколько методик, основанных на особенностях визуализации жировой ткани при МР-исследовании, позволяющих обнаружить депозиты жира в паренхиме печени [77,78]. Они могут быть сгруппированы в две основные группы в зависимости от основного принципа получения изображений: техники, основанные на подавлении сигнала от жировой ткани, и методики химического сдвига [6].

Техники подавления сигнала от жира необходимы для динамического контрастного исследования и для выявления патологических изменений в тканях исключительно жировой природы. Одной из основных техник подавления сигнала от жировых включений является методика селективного возбуждения молекул воды (water excitation). В этом случае происходит избирательное возбуждение молекул воды с помощью комплекса радиочастотных импульсов, что приводит к образованию резонансного пика, который в свою очередь накладывается на резонансный пик жира. Вследствие такого наложения сигнал от жира на изображениях подавляется, а сигнал от воды, в то же время, не меняется [79]. Таким образом, техники подавления сигнала от жира не позволяют судить о степени жировой инфильтрации печени, однако могут быть полезны для выявления патологических изменений, имеющих в своем составе лишь жировую ткань.

Существуют методики МРТ, позволяющие провести полуколичественную и количественную оценку содержания жира в тканях. Основой этих методик является различие в фазе сигнала воды и сигнала жира (химический сдвиг). Одной из таких методик является техника получения изображений в фазе / в противофазе (IP / OP), которая доступна к применению на большинстве МР-томографах и может быть использована во время рутинного исследования брюшной полости. Эта методика основана на интерпретации T1- взвешенных изображений, которые

могут быть получены очень быстро, благодаря применению многоканальных фазированных катушек (16-, 32-канала) и техники параллельного сбора данных. Кроме того, с помощью быстрых T1 - градиентных эхо последовательностей можно получить изображения большей части паренхимы печени за одну задержку дыхания [80]. Физической основой методики IP/OP является то, что под воздействием градиентов возникает разность фаз протонов воды и липидов, что в свою очередь приводит к изменению направления их векторов поперечной намагниченности (релаксации) в течение времени эхо и уменьшает длину вектора общей намагниченности [81]. При напряженности магнитного поля 1,5 Тесла, сдвиг частотных характеристик между жиром и водой оценивается в 220 Гц, в результате чего в условиях «противофазы» время эхо составляет около 2,4 мс., в условиях состояния в фазе время эха - около 4,8 мс. Благодаря чему возникает снижение сигнала в «противофазе» по сравнению с состоянием «в фазе», что предоставляет возможность для количественно оценить содержание жира [82]. При обработке серии изображений в «фазе» и «противофазе» можно произвести расчет концентрации жира попиксельно, что позволяет избежать ошибок, связанных с наложением. Таким образом, могут быть получены карты расположения жира в паренхиме печени, по которым выполняется оценка содержания жира в печени и выявляются различия в его региональном распределении. Разница в фазах между протонами воды и жира обеспечивает потерю сигнала в состоянии «противофазы», но необходимо учитывать изменения поперечной намагниченности, не связанные с характеристиками градиентов, которые играют важную роль в корректности оценки содержания жира [83].

Недавние исследования показали, что время поперечной релаксации после поперечного намагничивания протонов является переменным параметром, для каждого пациента оно индивидуально, однако, может варьировать также и у одного пациента. Эта переменность связана с депозитами железа в паренхиме печени, отмечающихся как в норме, так и при патологических состояниях, например, при гемахроматозе. Было показано, что изменение поперечной намагниченности коррелирует с уровнем сывороточного железа [84].

Таким образом, для получения точных результатов измерения содержания жира методики IP/OR необходимо учитывать содержание железа в тканях, поскольку оно снижает однородность магнитного поля и, следовательно, точность вычисления концентрации жира в печени [85].

Для предотвращения этих эффектов, связанных с неоднородностью магнитного поля, Dixon в 1986 году разработал другой вариант техники получения изображений «в противофазе», используя короткие спин-эхо последовательности с  $180^\circ$  рефокусирующим импульсом. Получение изображений «в фазе» производится с помощью стандартных спин-эхо последовательностей [77]. Расчет полусуммы или полуразности векторов поперечной намагниченности в этих состояниях позволяет получить изображения отображающие только сигнал от протонов воды или только от протонов жировой ткани – это двухточечный метод Диксона [86]. Однако, данная техника для получения точных результатов требует достаточную однородность магнитного поля. При наличии неоднородности поля появляется необходимость выполнения еще одного измерения (т.е. не в «фазе» и «противофазе» протонов воды и липидов) необходимого для расчета поправки на неоднородность поля – это трехточечный метод Диксона [87]. Такая техника получения изображений сложна в обработке, но не зависит от изменений векторов намагниченности [75].

Получение всех трех изображений в одну задержку дыхания часто не представляется возможным, в тоже время получение изображений при нескольких задержках дыхания ставит проблему артефактов на изображениях, связанных с изменением положения печени, из-за изменения позиции диафрагмы при разной глубине вдоха, что существенно снижает точность количественной оценки концентрации жира в паренхиме [88].

### **1.5. Магнитно-резонансная спектроскопия и ее роль в диагностике неалкогольной жировой болезни печени**

МРС – это методика МРТ, которая позволяет выполнить неинвазивную оценку метаболизма клеток и тканей различных органов *in-vivo*. Применение МРС дает возможность судить о патологических изменениях биохимии в тканях при различных патологических процессах (неопластических процессах, аутоиммунных заболеваниях, сосудистой патологии).

В отличие от МРТ, где интенсивность сигнал отражает степень релаксацию и протонную плотность тканей, при МРС сигнал снимается с резонанса протонов небольших органических соединений (метаболитов), находящихся в цитозоле клетки и межклеточном пространстве [1,2].

Протоны в молекулах метаболитов резонируют на немного отличающихся частотах, этот резонанс зависит от их электронного микроокружения. Это смещение частот возможно преобразовать в независимую от магнитного поля безразмерную величину, которая и является химическим сдвигом. Это возможно благодаря тому, что смещение частоты и основная резонансная частота находятся в прямой пропорциональной зависимости от значения индукции магнитного поля. Химический сдвиг, в таком случае, выражается как изменение резонансной частоты атома водорода в измеряемом образце относительно указанных в таблицах эталонных значений резонансных частот метаболитов. Величина сдвига исключительно мала в сравнении с основной ЯМР-частотой. Типичный сдвиг частоты равен 100 Гц, тогда как базовая ЯМР-частота имеет порядок 100 МГц. Таким образом, химический сдвиг выражается в частях на миллион (ppm) [89,90,91].

Существует несколько вариантов отражения результатов протонной МРС: в виде «спектральной кривой» и по средствам метаболических карт, являющихся отражением пространственного распределения концентрации определенных метаболитов с учетом анатомической структурой исследуемого объекта. Магнитно-резонансные спектры предоставляют информацию о веществе:



положение пиков на кривой, характеризующее химический состав, их ширину, которая напрямую отражает величину T2 времени релаксации метаболита, а также площадь под резонансным пиком, которая прямо пропорциональна протонной плотности, именно по ней можно вычислить концентрацию метаболита. Таким образом, соотношение между пиками метаболитов в спектре позволяет неинвазивно оценивать биохимические процессы, происходящие в отдельно взятом объеме органа [89,92].

Основными молекулами, дающими наибольший сигнал в протонном спектре, полученном в итоге обработки сырых данных от химического сдвига ядер водорода, являются молекулы воды и жиров, а, следовательно, методика протонной спектроскопии может быть используется для оценки концентрации жира в различных органах и тканях.

В частности, протонная МРС в настоящее время успешно применяется для *in-vivo* оценки метаболизма тканей головного мозга, молочной железы, печени и предстательной железы. Эта современная неинвазивная методика является вспомогательным инструментом диагностики опухолей различной локализации: головного мозга, печени, молочной и предстательной железы, области головы и шеи, конечности, а также метастазов опухоли в лимфатические узлы [93,94].

Возможность оценки концентрации жира в различных тканях особенно важна для пациентов с НАЖБП. В отличие от других методов, таких как УЗИ и КТ, МРС позволяет обнаружить даже минимальное накопление жира в паренхиме органа [2,95].

Существуют две основные импульсные последовательности для получения водородных спектров: STEAM и PRESS. STEAM – это методика связанная со стимулированными протонами позволяет исключить из полученных данных лишние сигналы (нестимулированное эхо) и, таким образом, избежать ухудшения качества спектра из-за влияния поперечной намагниченности ткани. Благодаря этому, методика STEAM обладает высоким разрешением по частоте и высокой точностью локализации вокселя в ткани, что делает ее наиболее часто используемой при проведении одновоксельной спектроскопии. Однако, методика

STEAM имеет относительно низкое соотношение сигнал/шум, что делает ее очень чувствительной к движениям пациента. При использовании методики PRESS движения пациента меньше влияют на качество полученных спектров. Пространственное же разрешение этой методики ниже, что приводит к ограничению ее применения для исследования печени в связи с особенностями ее анатомического строения [92].

Основой методики протонной МРС печени является оценка значения отношения концентрации воды к концентрации жиров (триглицеридов) на полученных спектрах [96]. Это возможно благодаря тому, что площадь под кривой и высота пика на спектрах находится в прямой зависимости от концентрации исследуемого метаболита, основной пик на спектре паренхимы печени – это пик воды (пик  $H_2O$ ), и он является отражением протонной плотности печени. Для вычисления относительного содержания жира необходимо использовать формулу  $S_1(Lip) / S_2(H_2O) + S_1(Lip) \times 100$ , где  $S_1$  – сумма площадей под кривыми пиков групп  $CH_2-CH_3$  (триглицериды), а  $S_2$  площадь под пиком воды. В случае увеличения относительного содержания жира численное значение, рассчитанное по представленной формуле, увеличивается, так как содержание воды в ткани стабильно и практически не меняется по мере старения организма человека, это и предоставляет возможность оценки относительной концентрации жира. Полученные значения выражают в процентах [2,85].

В 1994 году, Томсен и соавт. [85] впервые опубликовали результаты проведения протонной МРС паренхимы печени, которые были сопоставимы с данными биопсии. В своей работе они показали хорошее согласование результатов различных методов исследования. С тех пор был выполнен целый ряд исследований, направленных на сравнение МРС с другими инструментами визуализации [77,97,98].

Методика протонной МРС также была применена в исследованиях, направленных на выявление НАЖБП в общей популяции взрослого населения [5]. Большое число научных работ посвящено оценке содержания внутрипеченочного жира у пациентов с ожирением и риском СД 2 типа [31,99]. Кроме того, изучалась

зависимость содержания жира в паренхиме печени в зависимости от генетического фона, гормонального статуса обследованных субъектов [33].

Была продемонстрированы высокие уровни чувствительности, специфичности и точности МРС в выявлении жира в печени у пациентов с НАБЖП и измерялись на уровнях около 95-100 % [6].

Методика протонной МРС была испытана в отношении точности и показала высокую внутриисследовательскую воспроизводимость при повторных измерениях [100]. Также была продемонстрирована высокая воспроизводимость методики в течении определенного временного периода (недели) у пациентов с жировой инфильтрацией печени [101].

Спектроскопическое измерение жира количественно опирается на определение общей объемной доли жира в паренхиме печени. В противоположность этому при морфологическом исследовании, для количественного определения степени жировой инфильтрации используется процентное соотношение гепатоцитов с вакуолями жира и без вакуолей. Таким образом, заявленные процентные значения, характеризующие стеатоз при МР-спектроскопии могут отличаться от значения, полученного при гистологическом анализе. При этом, данные МРС и гистологии коррелируют друг с другом. Таким образом, два этих метода позволяют достоверно оценить количественное содержания жира в печени [102].

## **1.6. Основные направления в лечении неалкогольной жировой болезни печени**

Основным фактором риска развития неалкогольного жировой инфильтрации печени является избыточная масса тела. Снижение массы тела выступает как основополагающий фактор в лечении больных НАЖБП. Показана необходимость изменение образа жизни, включающее соблюдение гипокалорийной диеты (25 мг/кг) и умеренную физическую активность [103]. В диете необходимо соблюдать ограничение жиров животного происхождения до 30–90 г/день и уменьшение

потребления углеводов (особенно быстро усваиваемых) до 150 мг/сутки; важным является употребление не менее 15 г клетчатки за счет фруктов и овощей, а также продуктов, богатых витамином А. Однако, физическая активность сама по себе также снижает выраженность инсулинорезистентности и способствует улучшению качества жизни [104].

Препараты, используемые в лечении НАЖБП, должны быть максимально безопасны с точки зрения гепатотоксичности и они должны оказывать позитивное действие на улучшение клинико-лабораторных показателей и нивелирование патологических изменений в паренхиме печени [105].

Лекарственных препаратов, используемые в лечении НАЖБП, должны быть способны повышать чувствительность тканей к инсулину, уменьшать степень липотоксического стресса и повреждения гепатоцитов. Исходя из этого было оценена эффективной широкой группы лекарственных средств: метформин, тиазолидиндионы, статины, фибраты, пентоксифиллин, эссенциальные фосфолипиды (ЭФЛ), урсодеоксихолевая кислота (УДХК), витамин Е, адеметионин, Силимарин, бетаин, N-ацетилцистеин, глицирризиновая кислота, препараты альфа-липоевой кислоты, пре- и пробиотики [106–108]. Применение этих препаратов в первую очередь было направлено на коррекцию метаболического синдрома (особенно преодоление инсулинорезистентности).

Инсулинорезистентность в настоящее время выступает главным патогенетическим звеном в развитии НАЖБП, использование лекарственных средств, повышающих чувствительность клеток к инсулину представляется обоснованным и является главным фармакологическим звеном в лечении данной патологии. Среди препаратов инсулиносенситайзеров меньше всего побочных эффектов отмечено при применении препарата из группы бигуанидов метформина, вызывающего угнетение глюконеогенеза и способствующего синтезу липидов в печени, а также непосредственно воздействующего на инсулиновые рецепторы, напрямую улучшая транспорт глюкозы к клеткам. При применении этого препарата отмечались уменьшение степени жировой инфильтрации паренхимы печени, а в некоторых случаях и фиброза печени [10,20].

Исследование TONIC показало, что эффективность метформина, назначаемый в дозе 500 мг два раза в день в сочетании с коррекцией образа жизни в группе пациентов, не отличался от плацебо по показателям шкалы NAS или снижению уровня АЛТ. Кроме того, в группе метформина не наблюдалось значительного снижения индекса инсулинорезистентности (НОМА-IR) [109]

УДХК – препарат, минимизирующий токсичность желчных кислот и обладающий антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами [110]. Не было продемонстрировано влияние УДХК на уровень АЛТ у пациентов с НАСГ.

ЭФЛ – группа препаратов, эффективность которых показана в различных клинических исследованиях [20]. Основными достоинствами этих препаратов является их комбинированное действие и относительно небольшое количество побочных эффектов. Их мембрано–стабилизирующее и гепатопротективное действие реализуется благодаря непосредственному встраиванию молекул ЭФЛ в фосфолипидную структуру поврежденных печеночных клеток, что обеспечивает восстановление барьерной функции липидного слоя мембран гепатоцитов [111]. ЭФЛ способствует активации, расположенных в мембране фосфолипидзависимых ферментов, что, в свою очередь, нормализует обменные процессы в клетках печени.

В исследование Dasarathy и соавт. (2015 год) была продемонстрирована эффективность препаратов ЭФЛ в снижении содержания жира печени у пациентов со стеатозом печени, и отсутствие снижения уровня АЛТ, как маркера цитолиза, у пациентов с НАСГ, также, был продемонстрирован потенциальный риск прогрессирования фиброзных изменений при приеме этих препаратов у пациентов с НАСГ [112].

В настоящее время разрабатываются новые препараты для лечения НАЖБП [113]. Можно выделить несколько экспериментальных молекул: ASP9831 - ингибитор фосфодиэстеразы, не продемонстрировавший своей эффективности в лечении НАСГ, и продемонстрировавший необходимость более детального доклинического тестирования механизмов действия потенциальных кандидатов в лекарственные препараты для лечения НАЖБП [114]. CP-945598 - антагонист

каннабиноидных рецепторов 1 типа и рекомбинантный лептин продемонстрировавшие свой потенциал для дополнительного снижения веса у пациентов с НАЖБП [115,116].

Однако, до настоящего времени не создано стандартов медикаментозного лечения НАЖБП/НАСГ, основанных на принципах доказательной медицины. По данным рекомендаций для лечения взрослых (2012 год) и детей (2017 год) Американского Общества Гастроэнтерологов, существующие лекарственные препараты не были рекомендованы для лечения НАЖБП и наиболее эффективными были признаны: изменение образа жизни (снижение массы тела на 5-10%, увеличение физической нагрузки), коррекция диабета, гиперлипидемии, сердечно-сосудистых рисков [117,118].

Для подбора препаратов и выбора подходов к лечению НАЖБП необходима корректная диагностика этого заболевания.

По данным литературы проводится разработка новых подходов в диагностике и терапии НАЖБП, с появлением дополнительных возможностей инструментальных методик, в ряду которых протонная МРС имеет преимущество в виде достоверной количественной оценки содержания жира в паренхиме печени.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на результатах обследования 70 больных метаболическим синдромом и НАЖБП, добровольно согласившихся на участие в исследовании. Все пациенты наблюдались на амбулаторном и стационарном этапах в институте клинической кардиологии ФГБУ РКНПК МЗ РФ и клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева Университетской клинической больницы №3 ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения и социального развития России в период с 2011 по 2014 годы.

В период проведения исследования сопутствующая терапия у больных не менялась [119].

### **2.1. Критерии отбора и общая характеристика группы пациентов**

Отбор пациентов для проведения исследования проводился на основании общепринятых критериев включения и исключения принятых для постановки диагноза НАЖБП. У всех включенных в исследование больных ИМТ составлял более 25 кг/м<sup>2</sup>.

#### **Критерии включения**

Наличие стеатоза печени по данным УЗИ пациентов, при отсутствии данных о злоупотреблении алкоголя и о другой патологии печени, в отсутствие тяжелых соматических заболеваний, в том числе тяжелого течения сахарного диабета.

#### **Критерии невключения**

- наличие других заболеваний печени вследствие злоупотребления алкоголем (>10 г/день для женщин или >20 г/день для мужчин) либо вирусной инфекции, токсического и лекарственного гепатита, цирроза печени, болезней накопления (болезнь Вильсона-Коновалова, гемохроматоз, амилоидоз).

- наличие у пациентов тяжелой соматической патологии: ишемической болезни сердца или других атеросклеротических заболеваний, неконтролируемой АГ, тяжелой печеночной и почечной недостаточности, злокачественных новообразований, случаи выраженной гиперхолестеринемии (уровень общего холестерина  $> 8$  ммоль/л); СД 1 типа, а также 2 типа, требующий коррекции сахароснижающими препаратами;

- противопоказания к магнитно-резонансной томографии: наличие металла в теле, присутствие помп для введения лекарственных препаратов, искусственного водителя ритма, искусственных суставов, наличие клаустрофобии, окружность талии более 125 см) [2].

В обследуемую группу вошли мужчины и женщины в возрасте от 35 до 65 лет с обнаруженной по данным ультразвукового обследования жировой инфильтрацией печени. Наряду с этим проводилось общеклиническое обследование всех пациентов: физикальное обследование, сбор анамнеза, биохимический анализ крови, анализ на маркеры вирусного гепатита. Больные включались в исследования только при наличии установленного клинически диагноза НАЖБП.

При сборе анамнеза у всех пациентов методом опроса выяснялись количество употребляемого алкоголя, характер диеты, наличие факторов риска развития вирусных форм гепатитов (переливание крови, оперативные вмешательства, контакты с инфицированными), наличие сердечно-сосудистых заболеваний (повышение артериального давления, боли в сердце). Также определялся семейный анамнез заболеваемости, наличие у родственников сахарного диабета, ожирения.

При физикальном обследовании в первую очередь оценивался вес и окружность талии. При выявлении окружности талии больше 125 см, пациенты исключались из исследования в связи с аппаратными ограничениями томографа (размер апертуры – 70см, и необходимость применения поверхностной катушки). Также производился расчет индекса массы тела, для определения степени



ожирения пациентов [2]. В исследуемой группе преобладали пациенты с 1 и 2 степенями ожирения, данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение по степени ожирения в исследованных группах пациентов

Степень ожирения	пациенты со стеатозом n=37		пациенты с НАСГ n=33		Общее количество пациентов по ст. ожирения	
	%	N	%	N		
Ожирение 1-й степени	65%	24	40%	13	53%	37
Ожирение 2-й степени	30%	11	56%	19	43%	30
Ожирение 3-й степени	5%	2	4%	1	4%	3

## 2.2. Дизайн исследования

Первоначально, для отработки методики протонной МРС печени была набрана группа здоровых добровольцев в количестве 15 человек (8 мужчин, 7 женщин) без признаков наличия патологии печени, также, были взяты 10 пациентов, исключенных из основной группы в связи с декомпенсацией сахарного диабета. В этой группе протонная МРС выполнялась 4-хратно: дважды одним исследователем, и дважды другим исследователем.

Пациенты включались в исследование по результатам УЗИ при выявлении жировой инфильтрации печени, с учетом критериев невключения.

По результатам биохимического обследования крови пациенты разделялись на две исследуемые группы. Пациенты с нормальным уровнем ферментов образовали группу стеатоза печени, а пациенты с наличием повышения активности сывороточных трансаминаз (АЛТ, АСТ) более чем в 1,5 раза включались в группу НАСГ.

В обеих группах пациентов МРС выполнялась дважды, сразу после включения в исследования и через 6 месяцев, на фоне лечения.

В группе пациентов с НАСГ для подтверждения диагноза, в 15 случаях, до проведения МРС выполнялась биопсия.

В 15 случаях у пациентов из обеих групп данные МРС были сопоставлены с данными КТ.

### **2.3. Ультразвуковое обследование печени**

Всем пациентам из исследуемой группы было выполнено УЗИ органов брюшной полости. УЗИ печени проводилось на аппаратах IE33 фирмы Phillips и GE Healthcare Logiq C5 оснащенных мультисекторными и широкополосными конвексными датчиками с частотной разверткой 2-6 МГц. Исследование выполнялось по стандартной методике в В-режиме, в реальном времени, в правой подреберной косой плоскости, в верхней абдоминальной продольной и в верхней абдоминальной поперечной плоскостях. По данным исследования у каждого из них была выявлена повышенная эхогенность печени и вынесено заключение о наличии жировой инфильтрации. На рисунке 1 представлен поперечный срез правой доли печени у пациента 47 лет (из исследуемой группы больных) с неалкогольной жировой инфильтрацией, где хорошо видна выраженная гиперэхогенная паренхима. Наличие изолированной гепатомегалии и изменений эхогенности печени по результатам ультразвукового исследования было интерпретировано как бессимптомное течение неалкогольной жировой инфильтрации печени.



Рисунок 1 – Поперечный срез правой доли печени у пациента (47 лет) с неалкогольной жировой инфильтрацией. Отмечается повышенная эхогенность паренхимы печени. Исследование проводилось на аппарате IE33 (Phillips)

#### **2.4. Биохимическое исследование крови пациентов**

Забор крови для лабораторных анализов у пациентов осуществлялся из локтевой вены в утренние часы натощак. Биохимическое исследование сыворотки крови включало в себя определение концентрации ТГ, холестерина, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, холестерин липидов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), оценку активности АЛТ и АСТ.

У всех пациентов производилась оценка уровня сахара в крови, при выявлении значения показателя более 10 ммоль/л, на фоне приема сахароснижающих препаратов, пациенты исключались из исследования в связи с декомпенсацией течения СД.

НАЖБП в стадии НАСГ диагностировали при выявлении повышения уровня ферментов цитолиза в сыворотке крови (АСТ, АЛТ), дополнительно оценивался уровень ферментов холестаза ( $\gamma$ -ГТ). В норме показатели АСТ, АЛТ составляют менее 35 Ме/мл,  $\gamma$ -ГТ менее 49 Ме/мл. Превышение значения хотя бы одного из

трех указанных ферментов выше нормы более чем в 1,5 раза от референсных значений расценивалось как проявление НАСГ.

## 2.5. Пункционная биопсия печени

Чрескожную биопсию печени с последующим морфологической оценкой образца выполняли у 15 больных из группы с НАСГ. Объем биоптата составлял от 15 до 40 мм<sup>3</sup>.

Качественную оценку состояния печеночной ткани проводили путем гистологического исследования. Пунктат печени выбирали для исследования при обнаружении 4-х и более портальных трактов. Оценивалась выраженность патологических изменений паренхимы органа: наличие гидропической и мелко- и крупнокапельной жировой дистрофий, насыщенность гепатоцитов гликогеном, портальная и интралобулярная воспалительная инфильтрация, а также наличие некроза в ткани. Выполнялась оценка степени жировой инфильтрации паренхимы печени и стеатогепатита согласно шкале NAS (NAFLD activity score) – гистологической шкале разработанной Brunt E.M. и соавторами [55], с учетом модификаций, предложенных группой независимых исследователей по изучению НАЖБП [56]. Используя эти модифицированных критерии, выделялось четыре степени жировой дистрофии: <5% гепатоцитов – отсутствие жировой инфильтрации печени, 5-33% гепатоцитов – легкая степень жировой инфильтрации печени, 33-66% гепатоцитов – умеренная жировая инфильтрация печени, >66% гепатоцитов – тяжелая жировая инфильтрация печени. Характерная морфологическая картина жировой дистрофии печени представлена на рисунках 2 и 3.

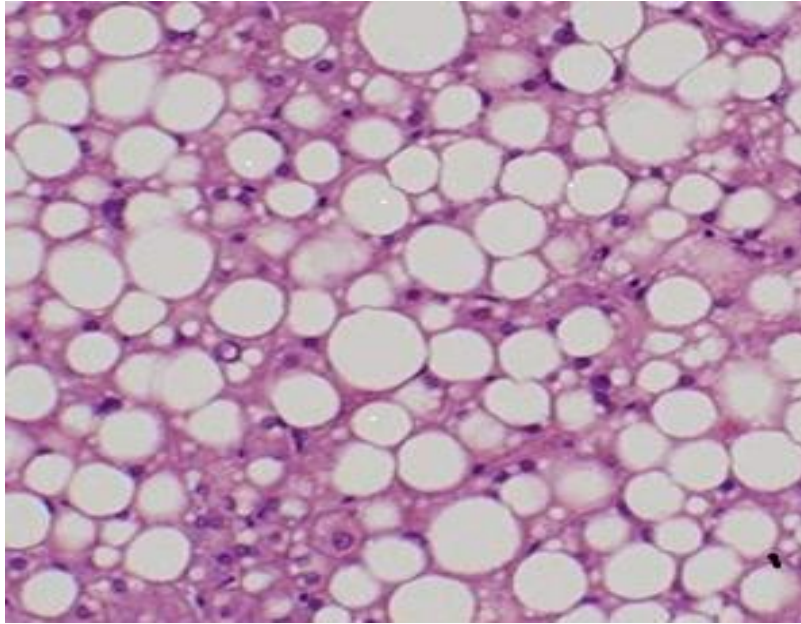


Рисунок 2 – Морфологическая картина жировой дистрофии печени (легкая степень) и лимфо-макрофагальная инфильтрация портальных трактов. В образце определяются жировые вакуоли в гепатоцитах и большое количество лимфоцитов (гистологическая картина НАСГ). Количество жира - 12%

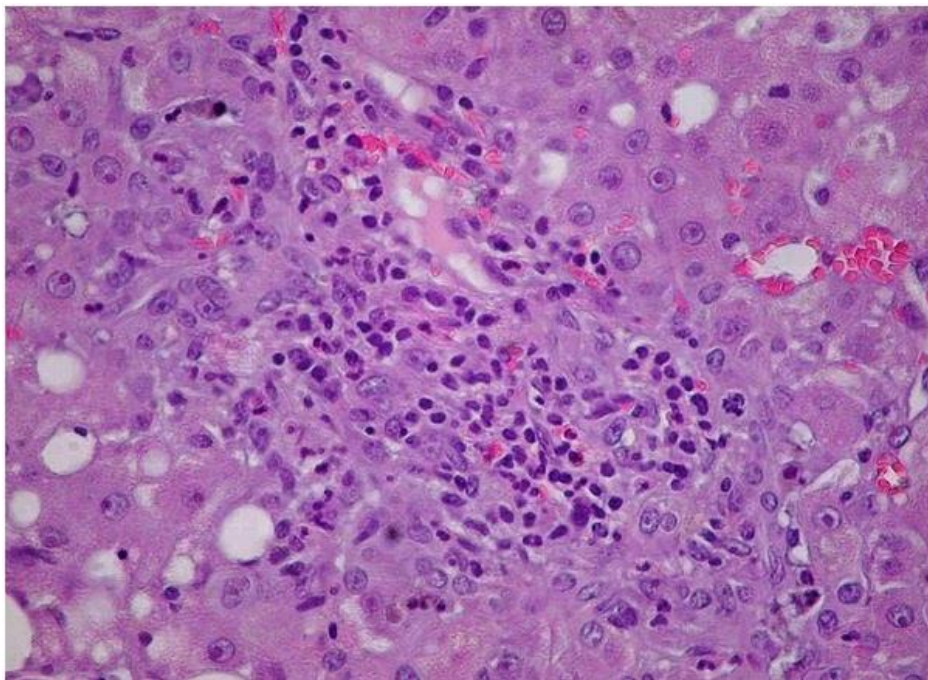


Рисунок 3 – Морфологическая картина жировой дистрофии печени (тяжелой степени), с наличием в гепатоцитах многочисленных крупных жировых вакуолей. Количество жира – 45% (3 ст. стеатоза печени)

## 2.6. Компьютерная томография брюшной полости

У 15 пациентов с наличием нормального индекса массы тела и изолированным повышением уровня триглицеридов в крови, без сведений о нарушении соблюдения рекомендаций по диете, возникла необходимость уточнения диагноза НАЖБП перед включением в исследование. Всем пациентам этой группы была выполнена мультиспиральная компьютерная томография печени [119].

Стандартное неконтрастное томографическое исследование брюшной полости выполнялось на 64-спиральном томографе Toshiba Aquilion. При исследовании использовали стандартный протокол обследования брюшной полости. Больного укладывали на стол на спину, в положении рук за головой. Для целей исследования выбирали программу «ABDOMEN». После этого производили топографическое сканирование области живота для определения зоны интереса. Параметры протокола сканирования: сила тока на трубке - 300 мА; напряжение на трубке – 120 kV, питч – 3,5. Изображения были реконструированы с толщиной среза 5 мм.

При КТ определяли плотность паренхимы печени. У всех обследованных было показано, что значение плотности составляет  $34 \pm 7$  HU (жировая инфильтрация).

Известно, что значение плотности печени здорового человека (50-57 HU) при КТ без контрастного усиления она снижается на 1,6 HU на каждый миллиграмм ТГ [120], депонированный на грамм печеночной ткани, что дает возможность использовать несколько методов определения соответствующих значений методом КТ. Была использована методика измерения плотности печеночной паренхимы, нормализованная на отношение плотности селезенки к печени [97]. Были получены значения плотности ткани печени в трех областях интереса, рассчитана средняя плотность ткани печени, рассчитана средняя плотность ткани селезенки путем оценки двух областей интереса, произведен расчет отношения плотности паренхимы печени к плотности селезенки. Бал выполнен расчет

содержания жира в печени в процентах, и его нормализация по значению соотношения плотности паренхимы печени к паренхиме селезенки.

Значение соотношения плотности печени к селезенке было рассчитано путем деления разности средней плотности паренхимы печени и средней плотности ткани селезенки на среднюю плотность ткани селезенки. Область интереса у всех пациентов в печени и в селезенке выбиралась на одном уровне и имела округлую форму с диаметром 2 см. Изображение КТ брюшной полости пациента (мужчина 50 лет) в аксиальной плоскости со средней степенью жировой инфильтрации, характерное для данного состояния, представлено на рисунке 4. На изображении видна отчетливая разница плотностей печени и селезенки, за счет накопления жира в печени. Отмечается диффузное снижение плотности печёночной паренхимы, на фоне которого сосуды выглядят более яркими.

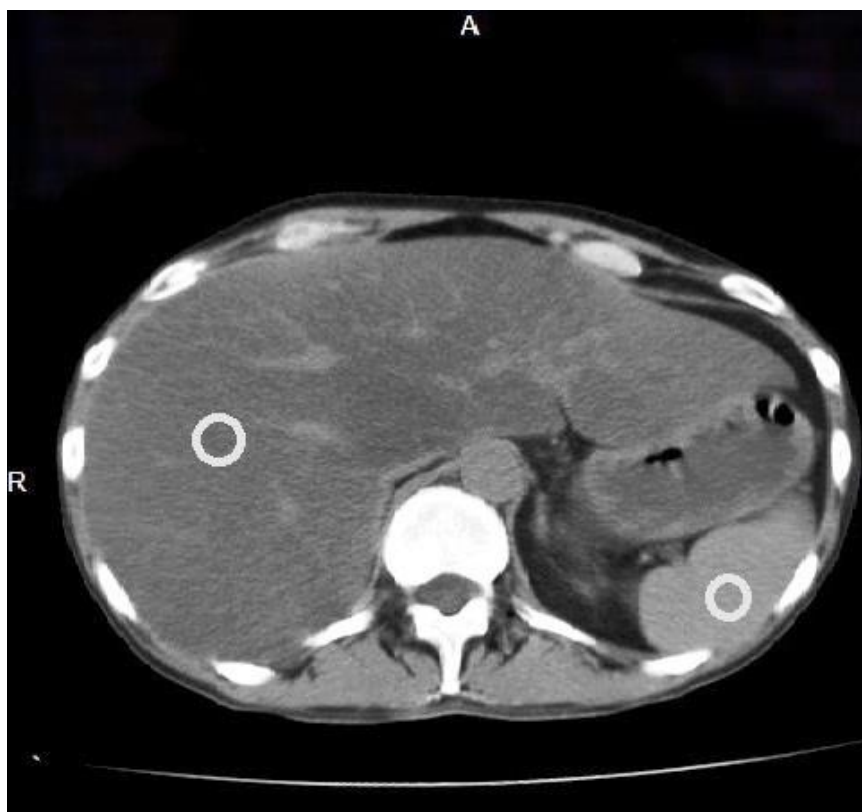


Рисунок 4 – КТ-изображение брюшной полости пациента 50 лет в аксиальной плоскости на уровне средних отделов печени и селезенки с установленным диагнозом НАЖБ (концентрация жира 25%), с обозначением областей интереса, плотность паренхимы печени диффузно снижена



## 2.7. Магнитно-резонансная томография брюшной полости

Исследование выполнялось на МР–томографе Achieva (Philips, Голландия) с напряженностью магнитного поля 3Т, с использованием 32-канальной катушки Torso/Cardiac, представлены на рисунке 5.



Рисунок 5 – Внешний вид томографа Philips Achieva с напряженностью поля 3Т

Исследования проводились по стандартному протоколу исследования брюшной полости. Для мультиплоскостного обследования печени нами были использованы импульсные последовательности, представленные ниже:

- T2 - ВИ турбо спин-эхо: размер вокселя – 1,4 x1,6x5 мм, размер реконструированного вокселя – 0,8 мм., время сканирования – 2 мин. 45 сек., размер матрицы сканирования – 332x245, поле обзора – 375 мм., время релаксации – 1800 мс., время эха – 80 мс., толщина среза – 5,0 мм., ориентация срезов – поперечная.
- T2 – ВИ с длинным временем эхо: размер вокселя – 1,4 x 1,6 мм, размер



реконструированного вокселя – 1,25 мм, время сканирования – 1 мин. 52 сек., размер матрицы сканирования – 332x335, поле обзора – 375 мм., время релаксации – 1600 мс., время эхо – 200 мс., толщина среза – 6,0 мм., ориентация срезов – сагиттальная.

- T2-ВИ турбо спин-эхо: размер вокселя – 1,4x1,6мм, размер реконструированного вокселя – 1 мм, время сканирования – 2 мин. 45 сек., размер матрицы сканирования – 332x245, поле обзора – 380мм., время релаксации – 1200 мс, время эха – 80 мс, толщина среза – 6,0 мм., ориентация срезов – корональная.

- T1-ВИ «в фазе»: размер вокселя – 1,5x2,0 мм., размер реконструированного вокселя – 0,8 мм., время сканирования – 2 мин. 45 сек., размер матрицы сканирования – 332x245, поле обзора – 375 мм., время релаксации – 10 мс., время эха – 4,6 мс., толщина среза – 6,0 мм., ориентация срезов – поперечная.

- T1-ВИ «в противофазе»: размер вокселя – 1,5x2,7 мм., размер реконструированного вокселя – 0,8 мм., время сканирования – 2 мин. 45 сек., размер матрицы сканирования – 332x245, поле обзора – 375 мм., время релаксации – 5,2 мс., время эха – 6,0 мс., толщина среза – 6,0 мм., ориентация срезов – поперечная.

У каждого пациента из группы 70 человек были получены стандартные T1–взвешенные изображения печени в аксиальной плоскости в фазе и в противофазе. Жир в печени определялся как зоны сниженного сигнала на изображениях в «противофазе». Стандартные полученные изображения печени в «противофазе» по сравнению с изображениями «в фазе» у одного и того же пациента (мужчина 50 лет) представлены на рисунках 6 и 7.

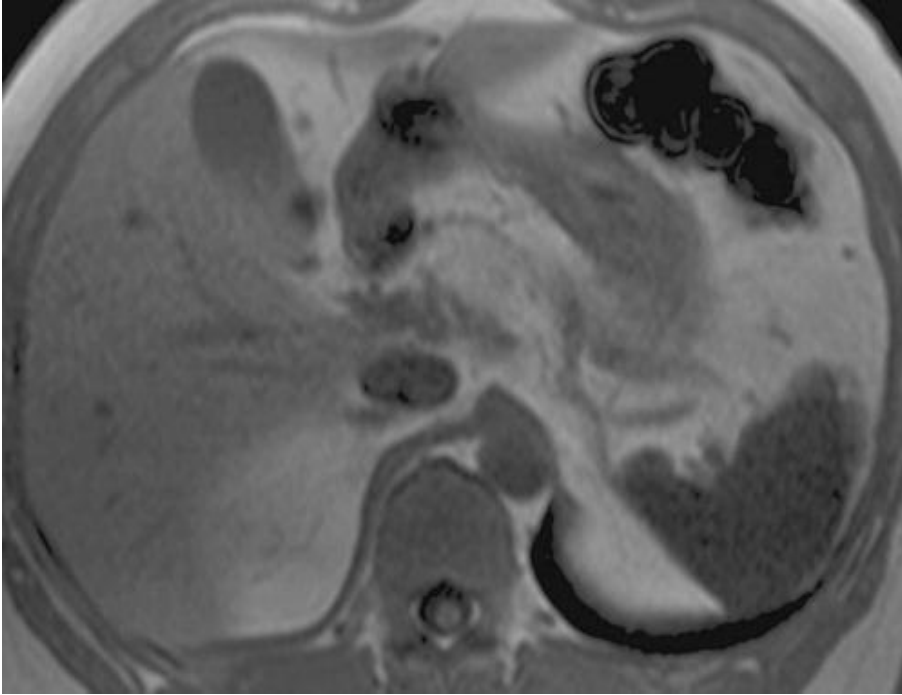


Рисунок 6 – T1-взвешенное изображение печени «в фазе», в аксиальной плоскости. Интенсивность сигнала от паренхимы печени не изменена

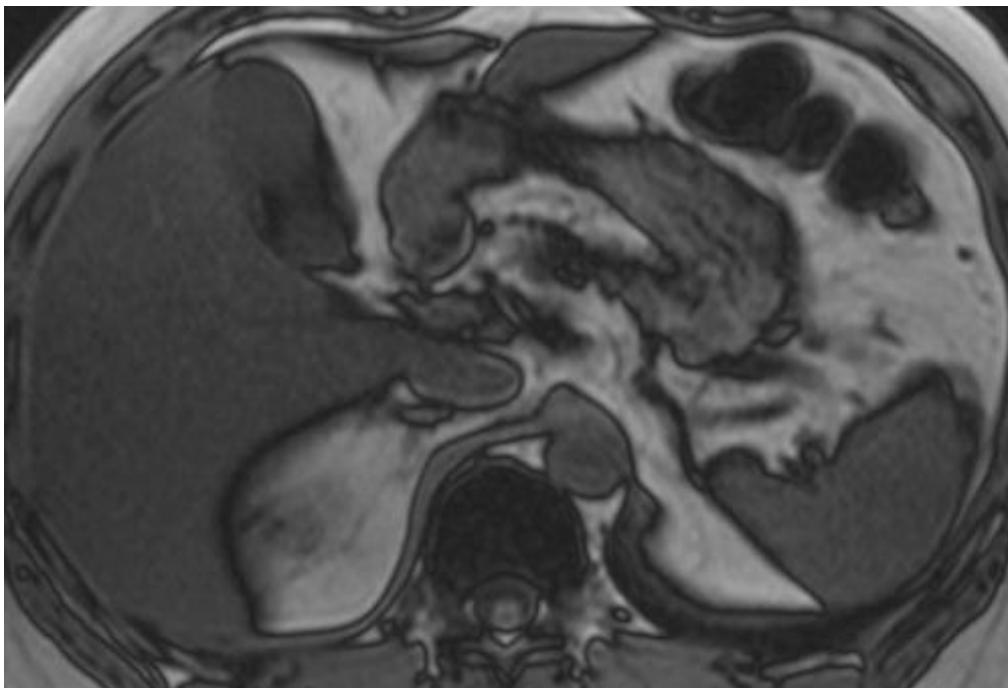


Рисунок 7 – T1-взвешенные изображения печени «в противофазе» в аксиальной плоскости. Отмечается диффузное неоднородное снижение интенсивности сигнала от паренхимы печени, как результат наличия жировой инфильтрации органа

Для снижения вероятности появления артефактов на спектральной кривой было необходимо правильно позиционировать на изображениях паренхимы печени спектроскопический воксель, избегая крупные сосуды и желчные протоки. Для этого было получены T2-взвешенные изображения в трех взаимоперпендикулярных плоскостях: аксиальной, саггитальной и корональной. Полученные изображения с уже выбранным положением вокселя представлены на рисунке 8.

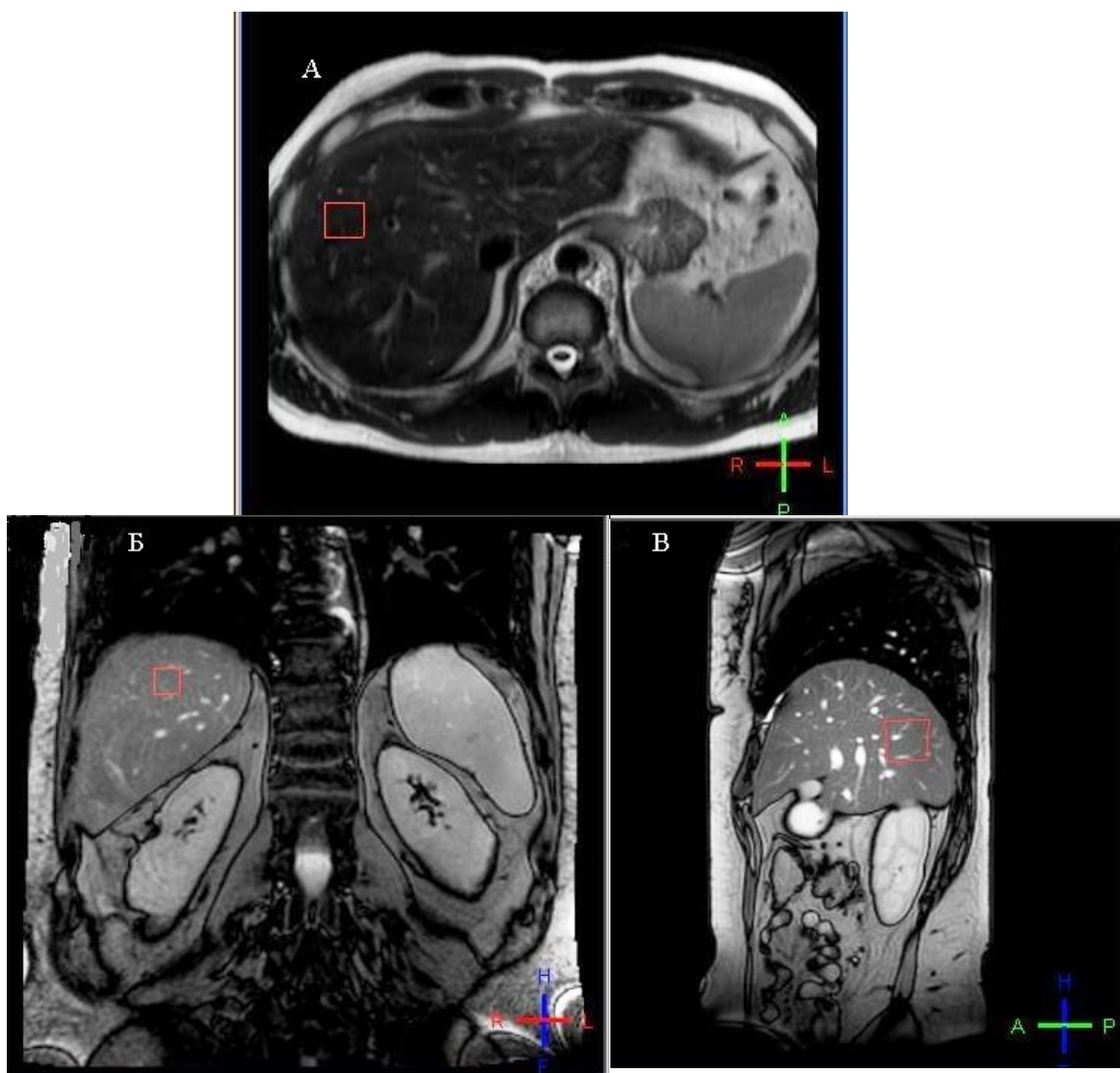


Рисунок 8 – T2-взвешенные изображения печени в трех взаимоперпендикулярных плоскостях: А – аксиальной плоскости, позиция вокселя в VII сегменте, Б – корональная плоскость, позиция вокселя в V сегменте, В - саггитальная плоскость, позиция вокселя в VIII сегменте. Показана позиция вокселя (одновоксельная спектроскопия)

Выбор позиции вокселя определялся в зависимости от распределения жировой инфильтрации в паренхиме печени, анатомии органа и был направлен на обеспечение наименьшего количества артефактов на спектральной кривой. Подобные артефакты могут быть связаны с недостаточной гомогенностью магнитного поля (неадекватным шимированием ткани) либо наличием «границы сред» попадающих в воксель (диафрагмы, нижний край печени).

## **2.8. Протонная магнитно-резонансная спектроскопия печени**

При использовании протонной МРС существуют две основные методики сбора данных с ограниченного объема исследуемой ткани: одновоксельная спектроскопия и мультिवоксельная спектроскопия. В данном исследовании использовалась одновоксельная спектроскопия в связи с диффузным характером жировой инфильтрации паренхимы печени у всех 70 обследованных пациентов.

Для проведения исследований был выбран размер вокселя 1x1x1,5см. Такой объем ткани позволял получить хорошее соотношение сигнал-шум (на уровне 80%), учитывая аппаратные особенности томографа. В эксперименте был подобран протокол: TE (время эхо) – 50 мс, TR (время релаксации) – 3000мс для исключения влияния T1-взвешенности, синхронизацией по дыханию с использованием триггера (количество повторений – 32). Данный протокол обеспечивал оптимальный уровень и качество сигнала в эксперименте [119].

На этапе формирования спектрального протокола выявились проблемы, связанные с артефактами, возникающими при дыхательных движениях пациента, которые необходимо было исключить.

Существуют два варианта получения корректных данных, исключающие подобные артефакты, связанные со смещением органов пациента, в связи дыхательными движениями: задержка пациентом дыхания и синхронизация работы томографа по триггеру.

В данном исследовании у части пациентов (15 человек) исследование выполнялось с задержкой дыхания длительностью 16 секунд. Учитывая, большое

количество задержек дыхания на один протокол (порядка 8-10) и разный характер дыхательных движений пациентов, невозможно было гарантировать стабильность совмещения вокселя с выбранным участком паренхимы печени. В связи с этим спектральный протокол был перестроен на получение спектра с применением методики синхронизации по дыханию с использованием триггера. Особенно это было необходимо в случае обследования тучных пациентов, в связи с невозможностью адекватной задержки дыхания.

В соответствии со стандартом томографа триггер устанавливали в верхней точке купола диафрагмы и был на 2/3 погружен в паренхиму печени. Размеры триггера: длина 5см, ширина - 1,5см. Для повышения эффективности работы триггера было необходимо обучение пациентов технике дыхания: глубокий вдох, медленный выдох, что позволяло считывать сигнал в одном и том же участке паренхимы печени, несмотря на движения органа при свободном дыхании и в результате повышало значение соотношения сигнал/шум.

Для оценки воспроизводимости методики одновоксельной протонной МРС исследование проводилось у пятнадцати здоровых добровольцев и десяти пациентов, исключенных из исследования.

Пять вокселей были позиционированы в различных сегментах печени и у каждого пациента измерения выполнялись дважды: при этом второе измерение проводилось строго на следующий день после первого.

Спектральные данные у каждого обследуемого из группы нормы регистрировались и обрабатывались двумя исследователями в идентичных условиях, подобный расчет выполнялся и у 10 больных, исключенных из исследования. Была рассчитана внутриисследовательская воспроизводимость

методики. Пример спектра печени добровольца с нормальным уровнем жира в печени представлен на рисунке 9.

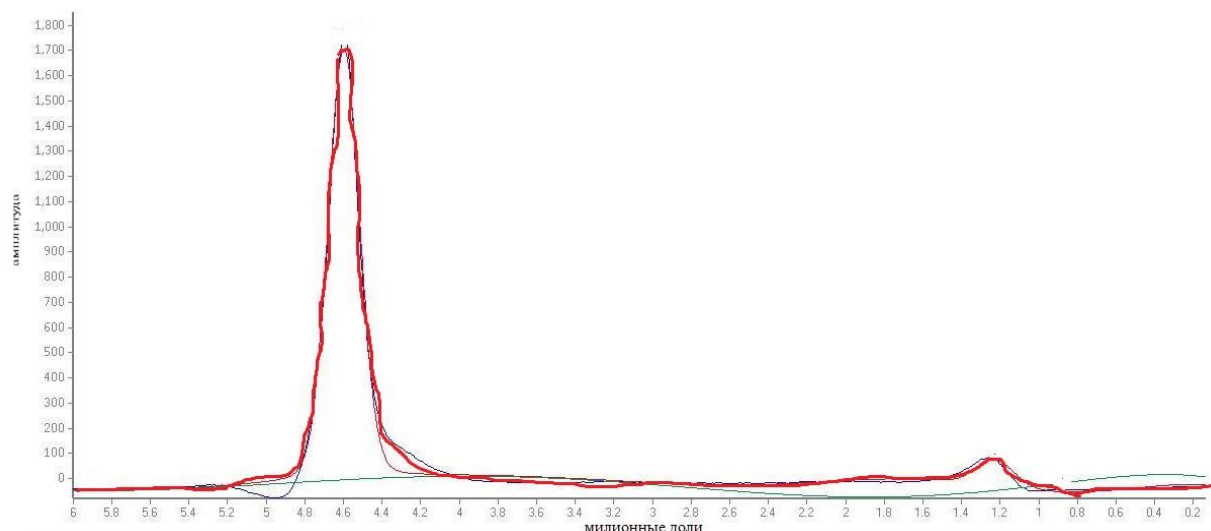


Рисунок 9 – Спектр протонной МР-спектроскопии добровольца с нормальным уровнем жира в печени (4,4%). Первый высокий пик отражает содержание воды в паренхиме органа, второй низкий пик – суммарное содержание жира

Для снижения количества артефактов на спектре и уменьшения толщины линий спектра у всех испытуемых, в том числе и добровольцев, при позиционировании вокселя избегали крупные сосуды (печеночные артерии и вены), а так же желчные протоки, так как попадание их в исследуемый объем приводило к выраженной деформации линий спектра, связанной с движущимися протонами метаболитов, находящихся в крови и желчи.

При базовой обработке спектральных кривых важно учесть возможное влияние тканевого железа на спектральную кривую, которое может нарушить гомогенность магнитного поля и ухудшить качество спектра. Для этого проводили программную корректировку спектров по эффекту T2\* и выполняли оценку интенсивности поперечной намагниченности паренхимы печени по фазовым спектральным кривым. Далее, посредством программного обеспечения томографа, выполняли выбор оптимальной фазы, для минимизации влияния эффекта T2\*. Если магнитное поле негомогенно и базовая линия спектра не выпрямлена, выбор оптимальной фазы в этом участке невозможен и спектроскопический воксель выставлялся на другой участок паренхимы (в пределах сегмента). Если же, и после этого не получали оптимальные

спектральные кривые, в протоколе нами изменялся параметр шимирования магнитного поля области интереса на максимальный по времени (около 10 мин). Подобный подход позволил получить референтные результаты у всех пациентов и исключить недооценку уровня жира в паренхиме.

Место первичного позиционирования вокселя выбиралось на T1-взвешенных изображениях «в противофазе» в области наибольшего снижения сигнала от паренхимы печени. При каждом исследовании выполняли оценку правильности размещения вокселя по T2-взвешенным изображениям (избегая крупные сосуды и желчные протоки) во всех трех анатомических плоскостях, и качества спектров (т.е. отношение сигнал-шум). Изображения и спектры низкого качества были исключены из последующего анализа. В случае наличия выраженных артефактов на спектре сбор данных повторяли после общения с пациентом. Это было необходимо, поскольку зачастую артефакты на спектре появлялись из-за движения пациента во время проведения исследования, нечеткой задержки дыхания или высокой частоты дыхательных движений (более 15 в минуту), что мешало адекватной работе триггера.

Далее, в течение примерно 20 минут, выполняли обработку спектральных данных каждого пациента с помощью стандартной программы томографа.

Была использована ручная регулировка фазы спектра для достижения интеграции линий спектра и выравнивания базовой линии. Концентрацию жира рассчитывали из интегральных площадей пиков по стандартизованной формуле –  $(S_2 / (S_1 + S_2) \times 100)$ , где  $S_1$  – это площадь под кривой пика воды, а  $S_2$  – это сумма площадей под кривыми пиков жира на 0,9, 1,3 и 2,0 ppm.

Протонную МРС всем пациентам со стеатозом печени и стеатогепатитом выполняли до лечения и после шести месяцев терапии. И в первом и в повторном измерении для стандартизации протокола позиционирование вокселя у всех пациентов совпадало по местоположению. Результаты измерений до лечения и после шести месяцев терапии сопоставимы между собой по условиям регистрации спектральных данных и представлены в главе «Результаты собственных исследований».

## 2.9. Статистическая обработка данных

При статистическом анализе полученных данных решались следующие задачи: формирование групп пациентов по выбранным критериям, оценка различий в количественных показателях внутри групп и между группами; оценка корреляции между показателями.

В ходе исследования применяли следующие процедуры и методы статистического анализа:

- определение числовых характеристик переменных;
- оценка соответствия эмпирического распределения количественных переменных теоретическому закону нормального распределения по критерию Колмогорова-Смирнова;
- оценка значимости различий средних значений количественных показателей в зависимых выборках по Вилкоксоу;
- оценка значимости различий средних значений количественных показателей в независимых выборках по критерию Манна-Утнни;
- оценка параметрической корреляции методом корреляционного анализа по критерию Спирмена;
- результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ ;
- данные описательной статистики представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, а также медианы, 25% и 75% квартилей.

При этом использовались стандартные методики, широко освещенные в литературе.

Статистический анализ результатов исследования выполняли с использованием пакетов прикладных программ: Statistica 8.0 for Windows - для статистического анализа.



## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Формирование групп пациентов

На основании клинических и инструментальных методов и инструментальных методов исследования при наличие гепатомегалии (пальпаторно и/или при УЗИ), повышенной эхогенности печени (УЗИ), а также при наличии повышении сывороточного уровня ферментов цитолиза (АСТ, АЛТ) и/или фермента холестаза (ГГТ) все пациенты были разделены на две группы.

В первую группу вошло 37 пациентов мужского и женского пола со стеатозом, у которых диагноз верифицирован по результатам УЗИ печени. Данные по физикальным данным группы пациентов со стеатозом приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Физикальные данные пациентов группы с неалкогольной жировой инфильтрации печени

Показатель	Значение	Интервал референсных значений
Мужчины / женщины	25 / 12	нет
Средний возраст, годы	44±11	нет
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	28±4,2	18,5 - 24,9
Окружность талии, см	112±14	≤ 80 см для женщин ≤ 94 для мужчин

У всех пациентов этой группы проведены стандартные исследования биохимии крови и показано, что значительных отклонений в биохимических анализах по 6 основным для данной нозологии показателям не выявлено, данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Биохимический показатели у пациентов из группы с неалкогольной жировой инфильтрацией печени

Показатель	Значение	Интервал референсных значений
Общий холестерин, ммоль/л	5,63±1,18	3,90 – 5,20
Триглицериды, ммоль/л	3,09±2,00	0,57 - 1,70
АСТ, МЕ/мл	29±8	0 – 35
АЛТ, МЕ/мл	22±5	0 – 35
ГГТ, МЕ/мл	32±6	0 – 49
Щелочная фосфатаза, МЕ/мл	103±45	40 – 150

Во вторую группу анализа (пациенты с НАСГ) по результатам УЗИ печени с выявленным повышением ферментов цитолиза и холестаза в биохимическом анализе крови более чем в 1,5 раза были включены 33 пациента мужского и женского пола, данные представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Биохимический показатели у пациентов из группы НАСГ

Показатель	Значение	Интервал референсных значений	
Общий холестерин, ммоль/л	5,63±1,18	3,90 – 5,20	
Триглицериды, ммоль/л	4,3±1,8	0,57 - 1,70	
АСТ, МЕ/мл	120±34	0 – 35	
АЛТ, МЕ/мл	65±18	0 – 35	
ГГТ, МЕ/мл	56±11	0 – 49	

## Продолжение Таблицы 4

Щелочная фосфатаза, МЕ/мл	110±35	40 – 150	
------------------------------	--------	----------	--

Данные по физикальным показателям группы пациентов с НАСГ приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Физикальные данные пациентов группы с НАСГ

Показатель	Значение	Интервал референсных значений
Мужчины / женщины	18 / 15	нет
Средний возраст, годы	40±14	нет
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	33,5±6,3	18,5 - 24,9
Окружность талии, см	97±17	≤ 80 см для женщин ≤ 94 для мужчин

Сопоставление физикальных данных двух групп не выявляет существенных различий, которые могли бы выступать дополнительными критериями диагностики.

Сопоставление результатов биохимического исследования крови преимущественно оценивалось показателями цитолиза: уровнем АЛТ и АСТ. У 37 пациентов (1 группа) уровень этих ферментов оставался в пределах нормальных значений. У 33 больных (2 группа) значения уровня АЛТ было повышено и в в этой группе составляло 120±34 ед. Показатели холестаза (ЩФ, ГГТ, уровень прямого и непрямого билирубина) оценивались лишь для исключения поражения печени другой природы и у всех обследованных пациентов находились в пределах нормальных значений. Расширенный

биохимический анализ крови всем пациентам выполнялся однократно при процедуре отбора в исследование. Повторный анализ был выполнен лишь у пациентов со стеатогепатитом для оценки динамики АСТ и АЛТ, как показателя активности воспаления в печени.

В ходе процедуры отбора 5 пациентов, у которых по данным УЗИ печени верифицирован диагноз НАЖБП, были исключены из исследования на основании данных МРС. Во всех этих случаях при МРС выявлено, что значение концентрации жира в печени укладываются в рамки нормы (концентрацию жира  $3,5 \pm 2,5\%$ ), несмотря на отмеченную при УЗИ жировую инфильтрацию печени. 10 пациентов были исключены из наблюдения в основных группах в связи с декомпенсацией СД.

Таким образом, после первичного обследования 85 пациентов, отобрано 70 больных НАЖБП: 37 пациентов с стеатозом печени, 33 пациента со стеатогепатитом, 15 здоровых добровольцев и 10 пациентов, исключенных из основных групп и включенных в исследование для оценки воспроизводимости МРС [119].

Протонная МРС печени выполнена 70 пациентам (40 мужчин, 30 женщин), средний возраст которых составил  $48 \pm 11$  лет, и 15 здоровым добровольцам (10 мужчин, 5 женщин), средний возраст -  $27 \pm 5$  лет и 10 пациентам исключенным из исследования (4 мужчин, 6 женщин), средний возраст -  $45 \pm 8$  лет.

Было проведено сопоставление веса пациентов с содержанием жира в печени по данным МРС, отмечая высокая корреляция ( $r = 0,88$ ,  $p < 0,02$ ). Данные представлены на графике 1.

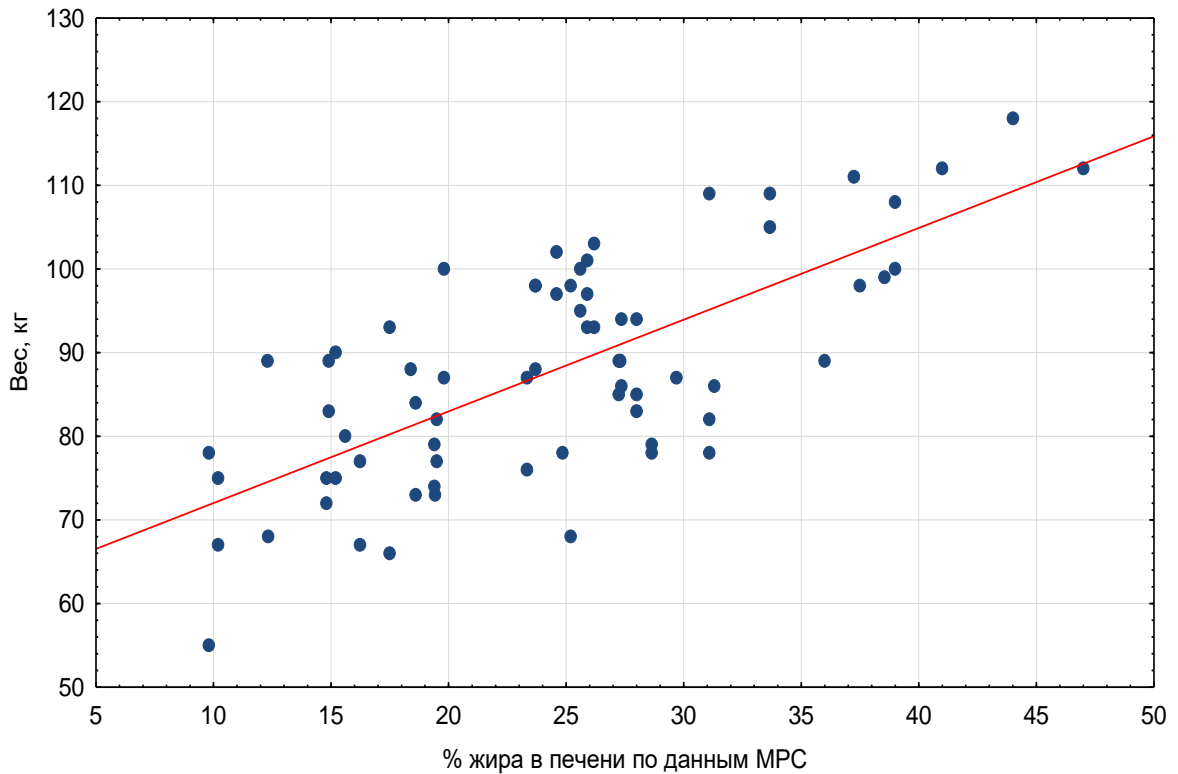


График 1 – Корреляция значений количества жира в печени, измеренного методикой протонной МРС и весом пациентов

### 3.2. Оптимизация методики магнитно-резонансной спектроскопии по водороду

#### 3.2.1. Проверка воспроизводимости методики

В группе здоровых добровольцев для определения воспроизводимости при первом исследовании выполненном первым исследователем концентрация жира в печени в среднем по группе составила  $5,3 \pm 2,5\%$  (нижний и верхний квартили 2,4% и 5,3%) [120]. Также обследованы 10 пациентов, исключенных из основных групп, в среднем в этой группе концентрация жира в печени составила  $16 \pm 3,4\%$  (нижний и верхний квартили 10,3% и 21,5%). У каждого отдельного исследуемого концентрация жира в печени определялась в пяти вокселях, три из них были расположены в правой доле печени, два - в левой доле, данные, полученные с пяти вокселей изменялись в пределах 0,4-0,8% (менее 1%), что подтверждает

диффузное распределение жира в паренхиме печени, стандартная ошибка составила 0,24% ( $p=0,012$ ).

При повторном исследовании здоровых добровольцев первым исследователем концентрация жира в печени в среднем составила  $5,1 \pm 2,1\%$  (нижняя и верхняя квартили 2,1% и 4,9%), коэффициент корреляции между исследованиями первого исследователя составил:  $r=0,95$  ( $p=0,0001$ ), стандартная ошибка повторяемости составила 1,73%, стандартная ошибка внутри одного исследования составила 0,11%. При исследовании группы здоровых добровольцев вторым исследователем концентрация жира в группе составила  $4,8 \pm 2,9\%$  (нижняя и верхняя квартили 2,3 и 5,8%), при повторном исследовании –  $5,0 \pm 2,9\%$  (нижняя и верхняя квартили 2,3 и 5,8%), коэффициент корреляции внутри исследования:  $r=0,97$  ( $p=0,0001$ ), стандартная ошибка повторяемости составила 1,63%, стандартная ошибка внутри одного исследования составила 0,15% [120]. При сравнении результатов, полученных первым и вторым исследователями, коэффициент корреляции  $r=0,91$  ( $p=0,0001$ ), ошибка воспроизводимости методики составила  $1,9\% \pm 0,8\%$ . Данные представлены на графике 2.

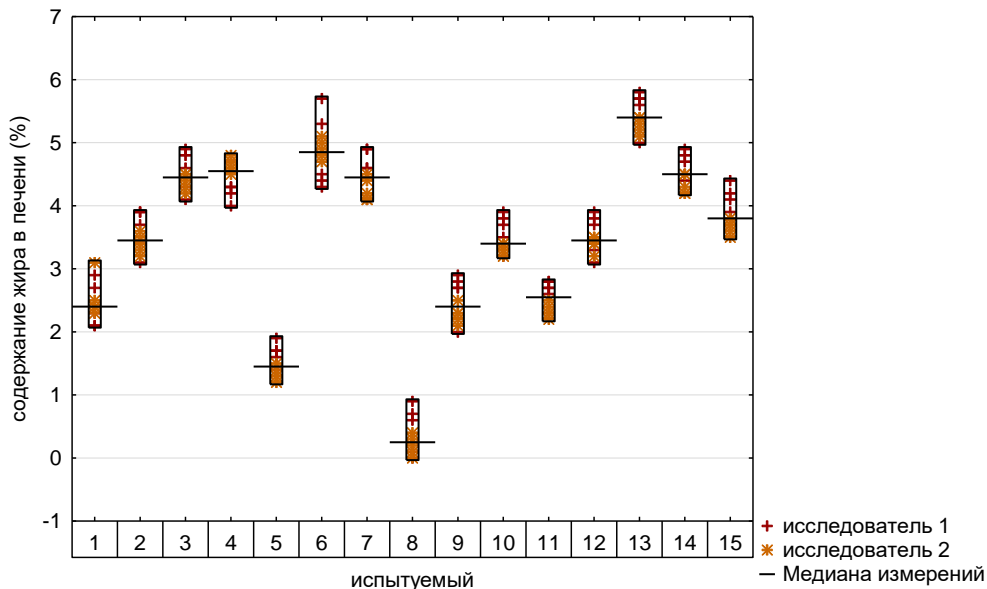


График 2 – Значение концентрации жира в печени у здоровых добровольцев при повторных измерениях двумя исследователями

При повторном исследовании группы исключенных больных первым исследователем концентрация жира в печени в среднем составила  $15,5 \pm 3,1\%$  (нижняя и верхняя квартили  $9,6\%$  и  $20,2\%$ ), коэффициент корреляции между исследованиями первого исследователя составил  $r=0,94$  ( $p=0,002$ ), стандартная ошибка повторяемости составила  $2,15\%$ , стандартная ошибка внутри одного исследования  $1,34\%$ . При исследовании группы больных вторым исследователем концентрация жира в группе составила  $15,4 \pm 3,5\%$  (нижняя и верхняя квартили  $9,3\%$  и  $19,8\%$ ), при повторном исследовании –  $15,7 \pm 3,4\%$  (нижняя и верхняя квартили  $9,6\%$  и  $20,1\%$ ), коэффициент корреляции внутри исследования:  $r=0,95$  ( $p=0,0003$ ), стандартная ошибка повторяемости составила  $1,93\%$ , стандартная ошибка внутри одного исследования –  $1,26\%$ . При сравнении результатов, полученных первым и вторым исследователями, коэффициент корреляции  $r=0,95$  ( $p=0,0002$ ), ошибка воспроизводимости методики составила  $2,3 \pm 0,5\%$ . Данные представлены на графике 3.

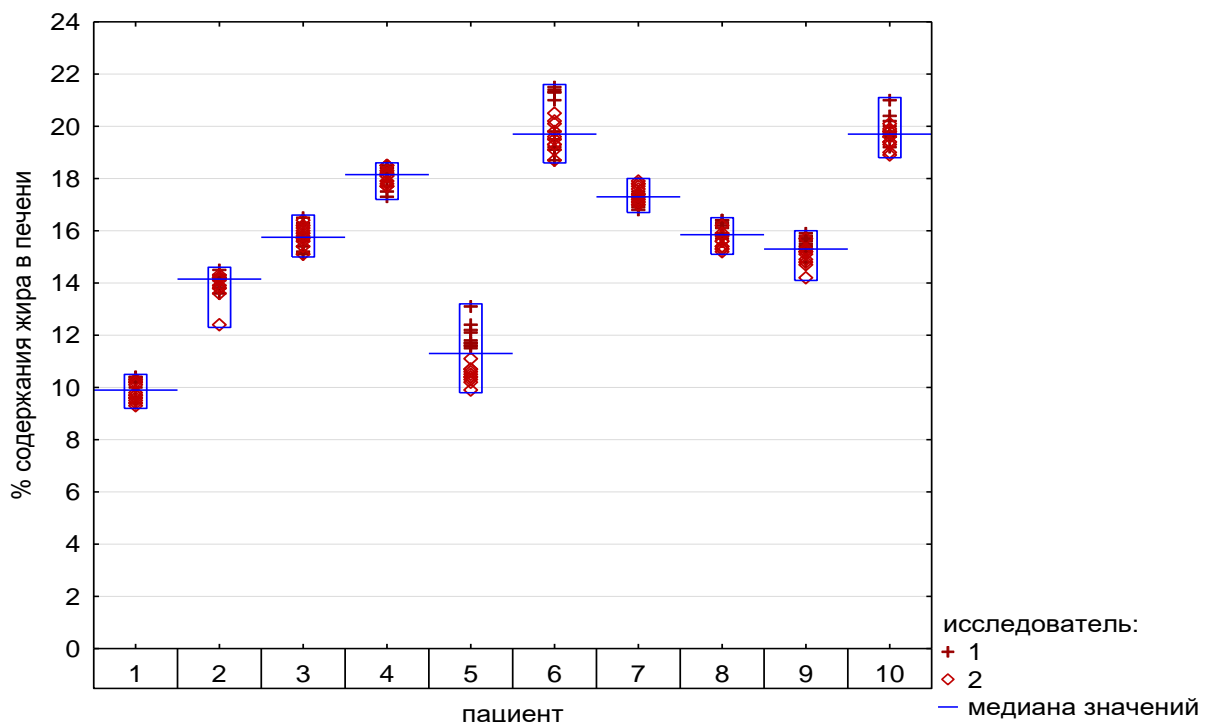


График 3 – Значение концентрации жира в печени у пациентов при повторных измерениях двумя исследователями

### 3.2.2. Оптимизация методики синхронизации по дыханию

У 15 пациентов со стеатозом печени выполнялась отработка методики задержки дыхания. У этих пациентов спектральное исследование, проведенное до начала терапии выполнялось по двум методикам: с задержкой дыхания и с использованием триггера. Спектры регистрировались в течение одного обследования с интервалом 20 минут.

Получено, что среднее значение содержания жира в печени в протоколе с задержкой дыхания составляло  $21,9 \pm 13\%$ , а в спектроскопическом протоколе с использованием триггера –  $20,6 \pm 14\%$ , представлено на графике 4. Статистически значимых различий получено не было, рассчитанный коэффициент корреляции составляет –  $r=0,93$  ( $p<0,05$ ).

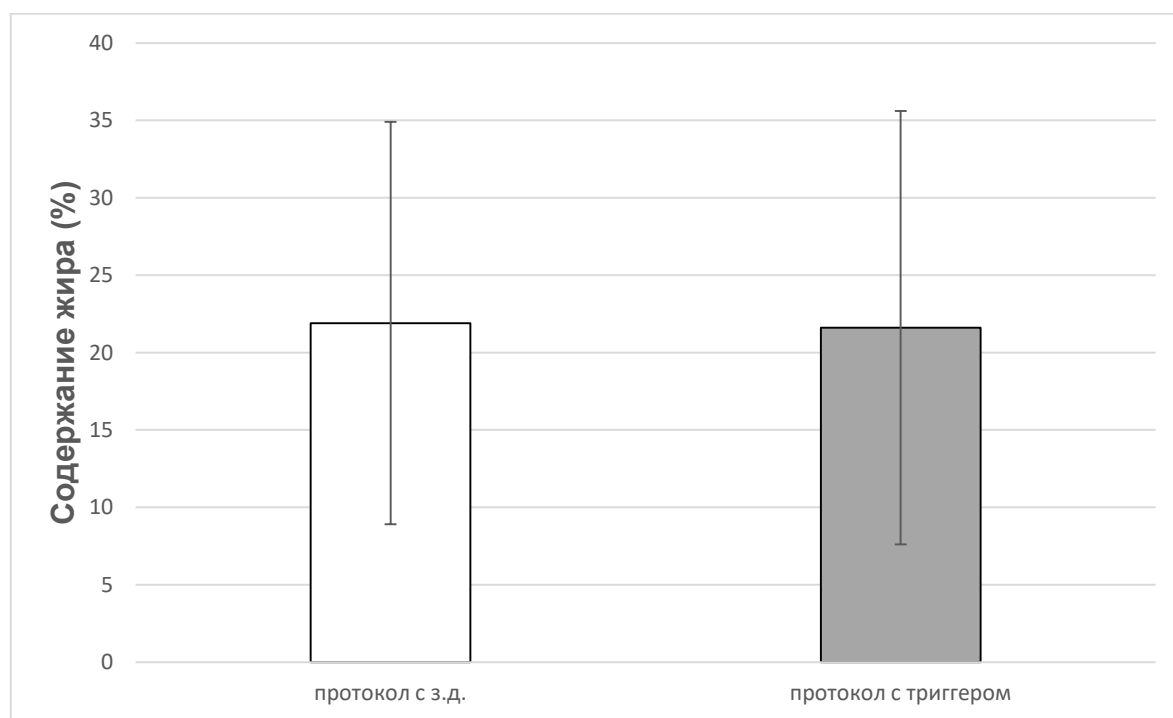


График 4 – Значение концентрации жира в печени у пациентов в протоколе с задержкой дыхания и по результатам протокола с триггером. Результаты указаны в среднем с указанием стандартного отклонения



### 3.3. Оценка точности метода протонной магнитно-резонансной спектроскопии

Для оценки диагностической точности метода протонной МРС при НАСГ нами проведено сравнение результатов инструментального обследования пациентов тремя методиками: пункционной биопсии, протонной МРС, мультиспиральной компьютерной томографии. Был проведен корреляционный анализ полученных данных.

У всех 15 пациентов с НАСГ, перенесших биопсию, выявлена жировая инфильтрация печени. Факт жировой инфильтрации печени подтвержден как данными биопсии, так и протонной МРС, данные представлены в графике 5.

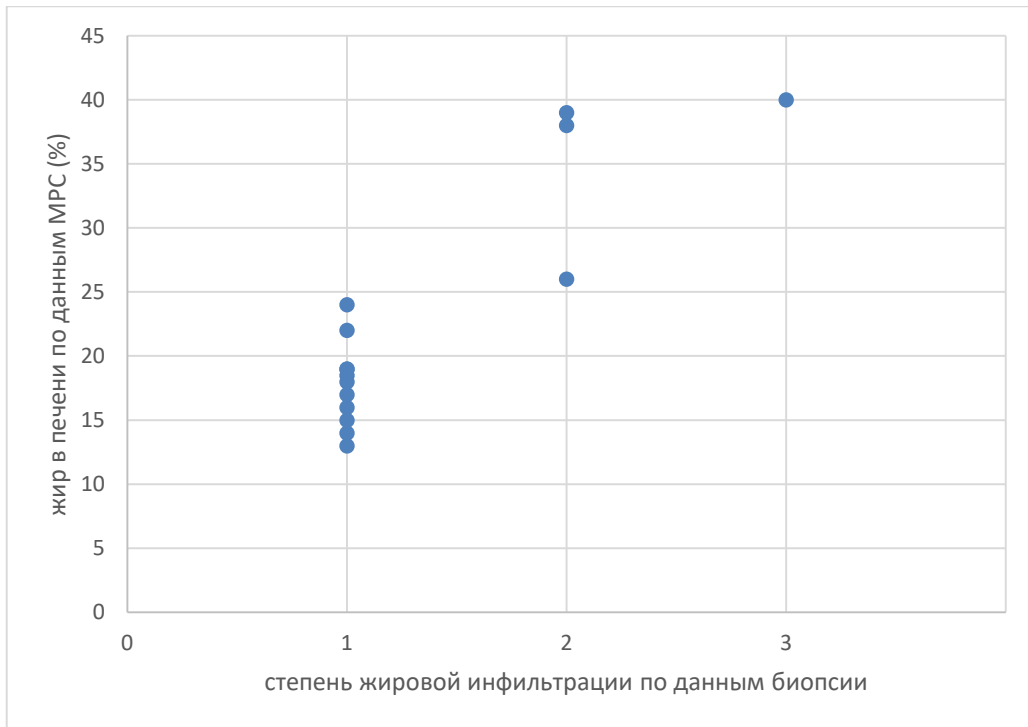


График 5 – Сравнение степени жировой инфильтрации печени по результатам биопсии и содержание жира по результатам МРС

Поскольку пункционная биопсия печени является «золотым стандартом» при оценке наличия жировой инфильтрации, то можно констатировать достоверность применение методов КТ и протонной МРС при диагностике этого заболевания. Среднее количество жира в печени оцененное методом протонной МРС составило

$22,6 \pm 9,2\%$  (нижний и верхний квартили, 17.5% и 27.7%). Среднее количество жира по результатам биопсии составило  $20,2 \pm 8,7\%$  (нижний и верхний квартили, 16.5%, 28.7%). На графике 6 показана высокая положительная достоверная корреляция была получена между значениями относительных уровней содержания жира, измеренных с помощью протонной МРС и при пункционной биопсии  $r = 0,91$ ,  $p < 0,0001$ .

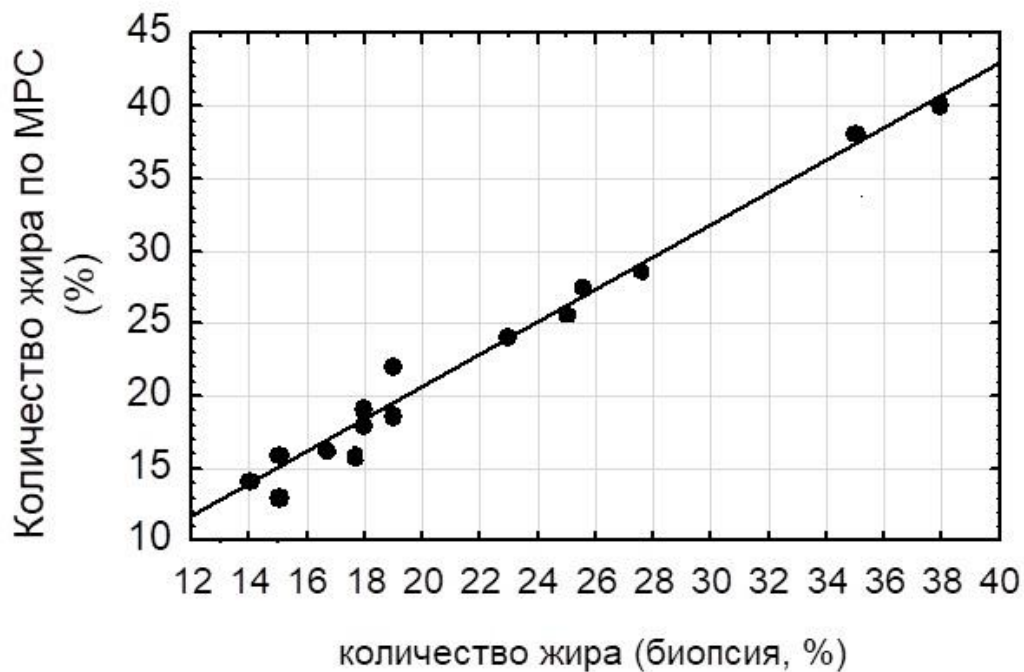


График 6 – Корреляция значений количества жира в печени, измеренного методикой протонной МРС и данных пункционной биопсии печени

Средние значения концентрации жира, полученные методом КТ составили  $25,7 \pm 15,5\%$  (верхний и нижний квартили, 17.1% и 34.3%), статистически значимых различий с данными протонной МРС получено не было. Наблюдалась положительная, достоверная, несколько более слабая корреляция данных КТ исследования и данных протонной МРС печени –  $r=0,85$ ,  $p=0,018$ . Данные представлены на графике 7.

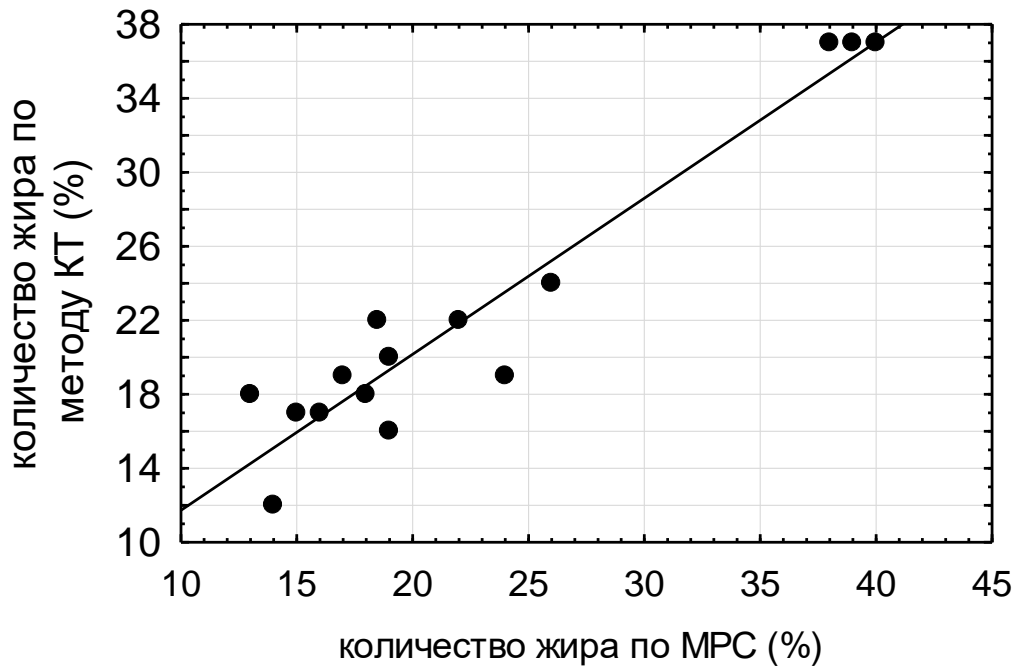


График 7 – Корреляция значений количества жира в печени, измеренных методикой протонной МРС и методом КТ

Представленные данные, показывают достоверную и высокую корреляцию ( $r = 0,91$ ,  $p < 0,0001$ ) между результатами, полученными методами протонной МРС и биопсии, как «золотого стандарта» диагностики НАЖБП, на группе из 15 пациентов.

#### **3.4. Результаты магнитно-резонансной спектроскопии в группе пациентов со стеатозом печени**

У всех пациентов первой группы в количестве 37 человек концентрация жира в печени оценивалась дважды: до начала лечения и по истечении 6 месяцев лечения. Пациенты получали эслидин ( метионин 100 мг, липоид ППА-400 – 300 мг) по 2 капсулы 3 раза в сутки на фоне сбалансированной гипокалорийной диеты, направленной на снижение веса, и умеренной физической активности. Снижение веса в этой группе составляло 7%, ИМТ в начале лечения составлял -  $33,5 \pm 6,3$ , через 6 месяцев после начала лечения -  $31,1 \pm 5,2$ .

В этой группе пациентов содержание жира в печени по результатам МРС варьировала от 7,5% до 58,4%, среднее значение составило  $22,4\% \pm 11,5\%$  (нижняя и верхняя квартили 14,9% и 28,7%). При этом концентрация жира в печени у 15 пациентов колебалась от 7,5% до 20%, у 14 пациентов - от 20% до 35%, в 4 случаях превышала 35%. При регистрации спектральных характеристик после комбинированной терапии, концентрация жира в печени варьировала от 1,5% до 43,7%, в среднем составляла  $13,5 \pm 10\%$  (нижняя и верхняя квартили - 5,54% и 18,9%). Сравнительные результаты спектральных исследований представлены на графике 8.

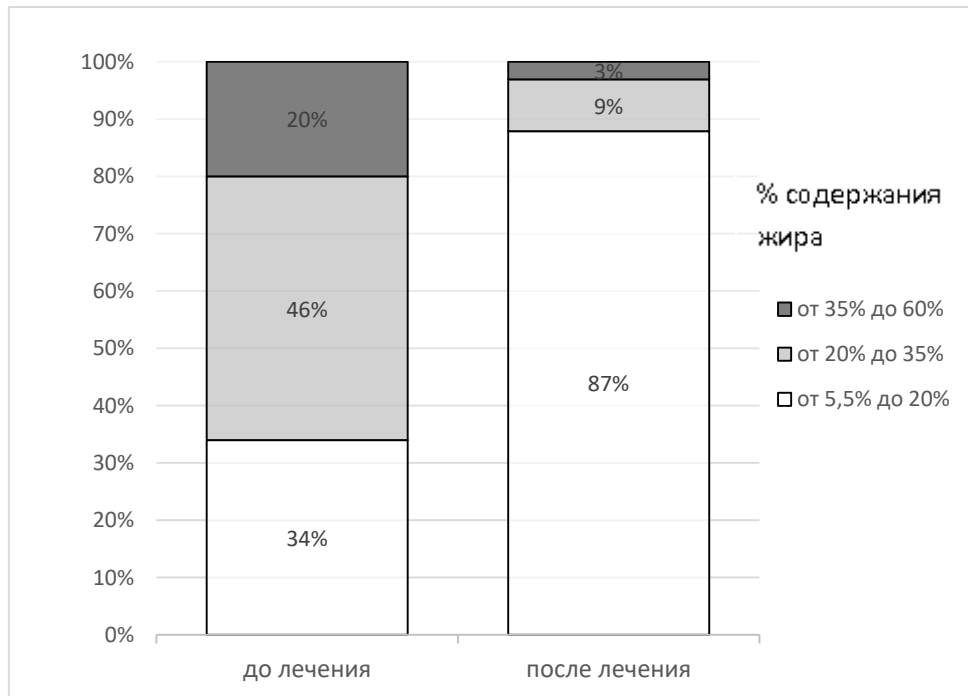


График 8 – Содержание жира в печени в первой группе пациентов до начала лечения и по истечении 6 месяцев, в процентах от общего количества пациентов в группе

Снижение содержания жира до нормальных значений выявлено у 18 пациентов (60%), у 7 пациентов (23%) выявлено снижение более чем в два раза и не было выявлено у 5 пациентов (17%) [121]. При подробном опросе выяснено, что эти 5 пациентов не соблюдали рекомендованной диеты и режима физической активности, что и объясняет отсутствие изменений. В целом, между подгруппами разница содержания жира в печени, показанное методом протонной МРС до и

после лечения была статистически достоверна (Критерий Вилкоксона,  $p < 0,001$ ), представлена на графике 9.

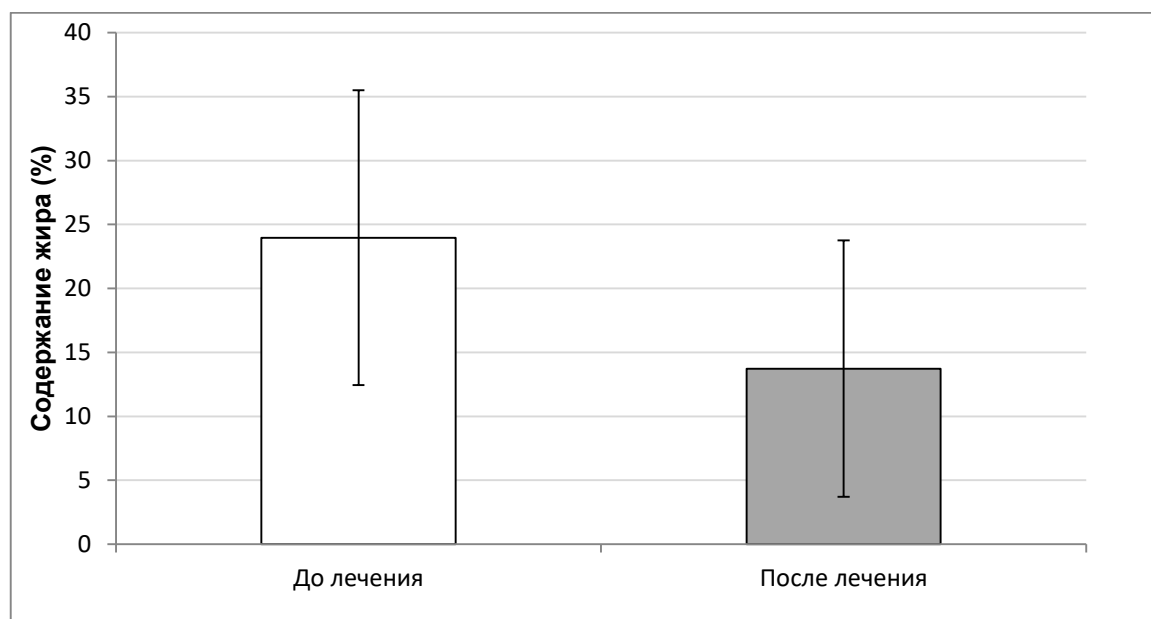


График 9 – Изменение концентрации жира в печени пациентов 1 группы до и после лечения. Приведены показатель среднего со стандартным отклонением до лечения, и медианы с обозначение верхнего и нижнего квартиля после лечения

Ниже представлен клинический пример динамического наблюдения пациента с неалкогольной жировой инфильтрацией печени в форме стеатоза печени.

Больная Н., 47 лет, поступила в стационар в связи с регулярным повышением артериального давления. При ультразвуковом исследовании выявлялась диффузная жировая инфильтрация печени. Активных жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта не предъявляла. В диете пациентки преобладали углеводы, питание не регулярное.

При физикальном осмотре: общее состояние удовлетворительное, кожные покровы чистые, видимые слизистые физиологической окраски. Вес – 91 кг., рост – 163 см., ИМТ – 34,3. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС – 68 в 1 минуту. АД – 120/80 мм рт. ст. Дыхание везикулярное. Живот мягкий, безболезненный. Печень не выступает из-под края реберной дуги. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон.

По результатам биохимического и серологического анализов крови не выявлено повышения ферментов цитолиза печени, контаминации организма вирусными агентами (вирусы гепатита А, В, С, Е, F, TTV и др). Определялось повышение уровня ТГ – 4,5 ммоль/л, при нормальном уровне общего холестерина крови – 3,8 ммоль/л.

Пациентке проведена протонная МРС, содержание жира в печени составило 28%, спектр представлен на рисунке 10.

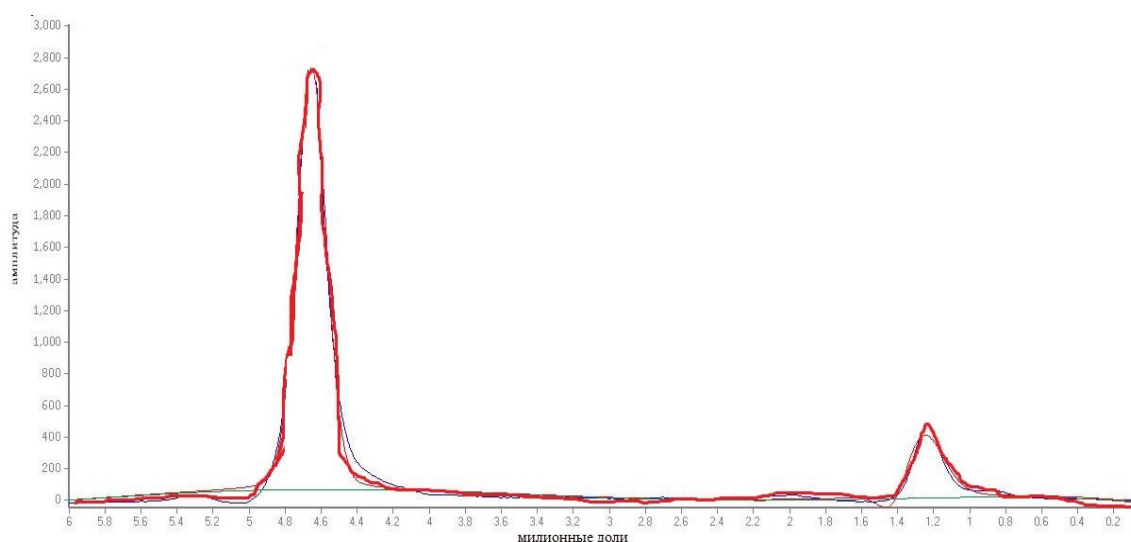


Рисунок 10 – Пациентка М, 47 лет. Спектр протонной МР-спектроскопии печени до лечения. Содержание жира – 28%. Первый высокий пик отражает содержание воды в паренхиме органа, второй низкий пик – суммарное содержание жира

Больная была направлена в профильное учреждение, где для дифференциальной диагностики было выполнено морфологическое исследование (биопсия) печени. По данным биопсии выявлена жировая инфильтрация печени 2 степени по Brunt (содержание жира 25-30%), фиброзных и воспалительных изменений органа не отмечалось. Верифицирован диагноз НАЖБП в форме стеатоза печени. Пациентке были рекомендованы дозированные физические нагрузки и контроль веса, подобрана сбалансированная диета по употреблению белков, жиров и углеводов: 30% жира, 15% белков и 55% углеводов, в том числе 5% сахара.

Пациентка в течение 6 месяцев получала эслидин (метионин 100 мг, липоид ППА -400–300мг) по 2 капсулы 3 раза в сутки. По истечению 6 месяцев протонная МР-спектроскопия была выполнена повторно, содержание жира в печени составило 3% (при норме <6,5%), данных за наличие жировой инфильтрации получено не было, спектр представлен на рисунке 11.

Данный клинический случай показывает, что при соблюдении пациентов диеты и дозированной физической нагрузки возможно восстановление нормального состояния печени у пациентов с НАЖБП, что можно выявить с помощью МРС.

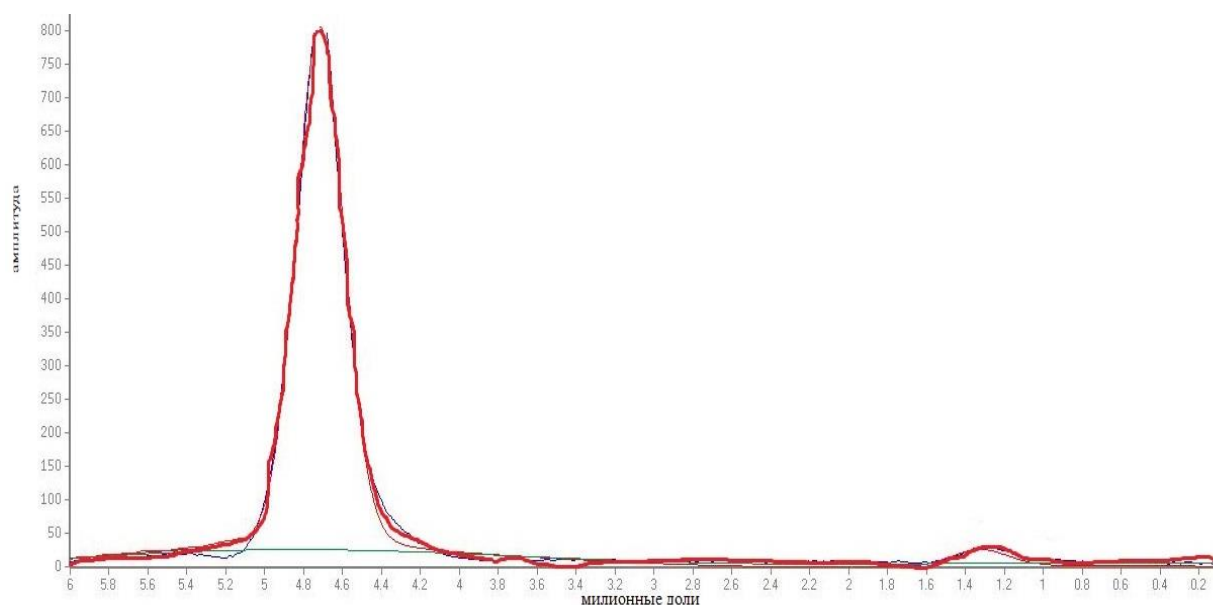


Рисунок 11 – Пациентка М, 47 лет. Спектр протонной МР-спектроскопии печени после лечения. Содержание жира – 3%. Первый высокий пик отражает содержание воды в паренхиме органа, второй низкий пик – суммарное содержание жира

### 3.5. Результаты магнитно-резонансной спектроскопии в группе пациентов с неалкогольным стеатогепатитом

У всех пациентов второй группы в количестве 33 человек концентрация жира в печени оценивалась дважды: до начала лечения и по истечении 6 месяцев лечения.

Пациенты с НАСГ в течение всего периода наблюдения получали урсофальк и метформин в терапевтических дозах, соблюдали гиполипидемическую диету. Значимых изменений ИМТ в этой группе пациентов получено не было, несмотря на проводимую терапию и модификацию образа жизни. ИМТ составлял  $34 \pm 5,2$ .

В группе пациентов со стеатогепатитом содержание жира в печени по результатам протонной МРС варьировала от 10,5% до 60%, в среднем составила  $28,86 \pm 19\%$ . При этом концентрация жира в 10 случаях колебалась от 5,5% до 20%, в 15 случаях отмечена в интервале 20-35%, в 6 случаях – в интервале 35-60%, данные представлены на графике 10.

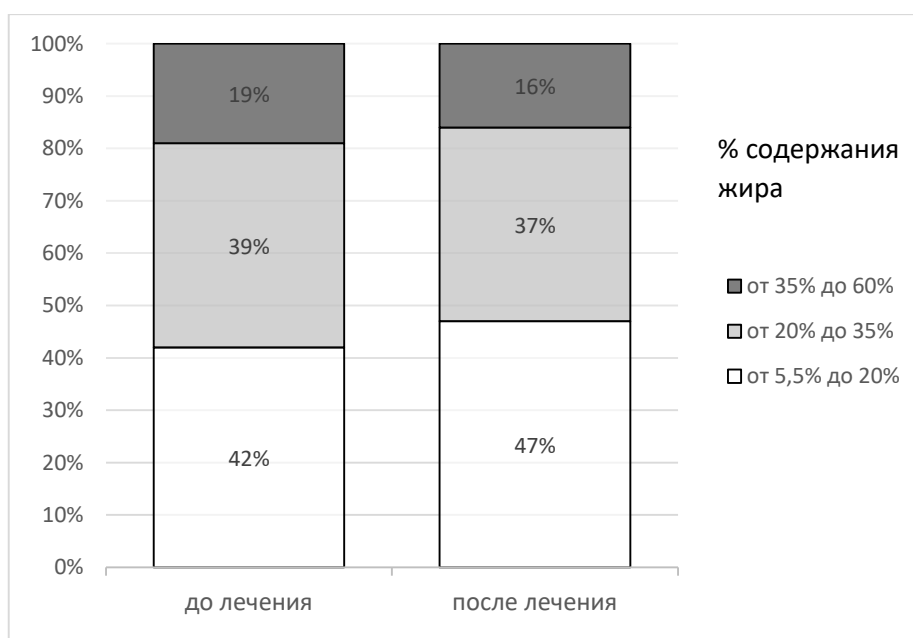


График 10 – Содержание жира в печени в группе пациентов с неалкогольным стеатогепатитом до начала лечения и по истечении 6 месяцев, в процентах от общего количества пациентов в группе



Статистически значимых различий между содержанием жира в печени в группе пациентов с неалкогольной жировой инфильтрацией и НАСГ не было выявлено ( $p=0,18$ ) [122].

При повторном обследовании содержание жира в печени по результатам протонной МРС варьировала от 7,5% до 60% и, в среднем, составляла  $26,7 \pm 15\%$ . У 29 пациентов на фоне гиполипидемической диеты и вышеуказанной терапии снижения концентрации жира в печени до нормальных значений не наблюдалось. При этом у 7 пациентов отмечена нормализация биохимических показателей, а у 19 – значительное снижение АЛТ. В то же время, у 8 пациентов произошло снижение концентрации жира в печени около 20% от исходного значения, и находилось в пределах стандартного отклонения (не являлось статистически достоверным). У 25 пациентов этой группы статистически достоверного снижения содержания жира не отмечалось, колебание содержания жира находилось в пределах ошибки метода, что представлено на графике 11.

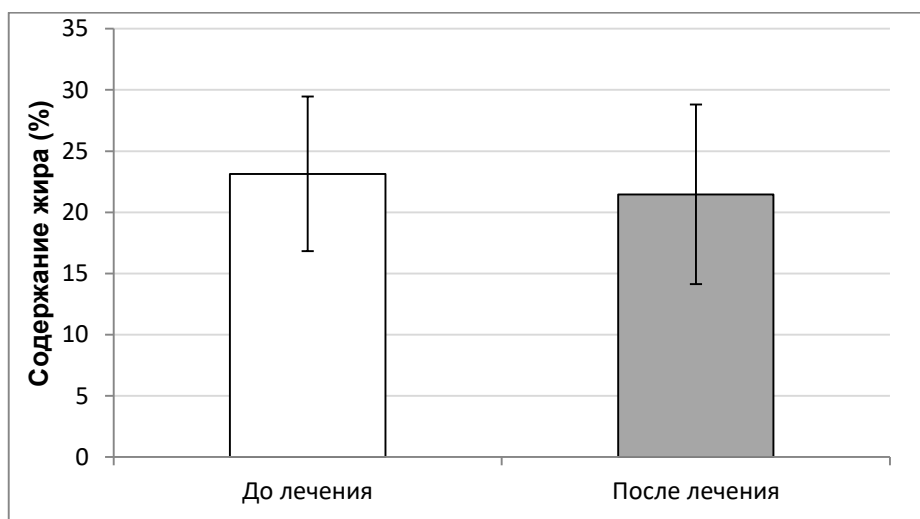


График 11 – Изменение содержания жира в печени пациентов 2 группы до и после лечения. Приведены показатель среднего со стандартным отклонением

Ниже представлен клинический пример динамического наблюдения пациента со стеатогепатитом:

Больная Д., 41 года, находилась на стационарном лечении в Университетской клинической больницы №3 ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздравсоцразвития России» с 18.05.2013 г. по 30.05.2013 г. Жалобы на дискомфорт в правом подреберье, отрыжку воздухом, метеоризм, умеренную общую слабость.

Считает себя больной в течение 2 лет, после того как при плановом обследовании на УЗИ были обнаружены признаки жировой инфильтрации печени. В течение 3 лет периодически беспокоил дискомфорт в правом подреберье, в последние 2 года ощущение стало практически постоянным, в связи с чем и выполнено УЗИ брюшной полости. В течение последних 1,5 лет масса тела увеличилась на 8 кг. Диету и режим питания не соблюдала.

При физикальном осмотре: общее состояние удовлетворительное, кожные покровы чистые, видимые слизистые физиологической окраски. Вес – 96 кг., рост – 169 см. ИМТ – 33. Тоны сердца ясные, ритмичные. ЧСС – 65 в 1 минуту. АД – 130/80 мм рт.ст. Дыхание везикулярное. Живот мягкий, при пальпации чувствителен в правом подреберье. Печень выступает из-под края реберной дуги на 1 см, нижний край ровный, уплотнена. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон.

В биохимической анализе крови выявлено 3х-кратное повышение АЛТ (до 113 Ед/л), и двукратное АСТ (до 85 Ед/л), также отмечалось повышение ГГТ (до 74 Ед/л). Отмечалось повышение липидных фракций крови при нормальном уровне общего холестерина (5,2 ммоль/л): ХС-ЛОПНП – 2,3 ммоль/л, ХС-ЛПНП – 4,3 ммоль/л, ТГ – 2,9 ммоль/л. Остальные показатели находились в пределах нормальных значений. Маркеры вирусных гепатитов не обнаружено.

По результатам УЗИ брюшной полости выявлялась гепатомегалия, выявлялись диффузные изменения паренхимы печени по типу стеатоза.

По результатам биопсии печени выявлена рассеянная и очаговая крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов в сочетании с гидропической, 3 ст. стеатоза по E. Brunt, индекс гистологической активности составил 3 балла по Knodel, что характеризовало минимальную активность воспалительного процесса. Верифицирован хронический стеатогепатит обменной природы.

По данным протонной МР-спектроскопии печени количество жира в печени составило – 30%, спектр представлен на рисунке 12.

Пациентке поставлен диагноз неалкогольного стеатогепатита, умеренная степень активности на фоне ожирения I ст., инсулинорезистентности и гиперлипидемии.

Пациентке была назначена терапия препаратами урсодезоксихолиевой кислоты в дозе 12 мг/кг/сутки, эссенциальные фосфолипиды в терапевтической дозировке, даны рекомендации по дозированной физической нагрузке и снижению веса, подобрана сбалансированная диета.

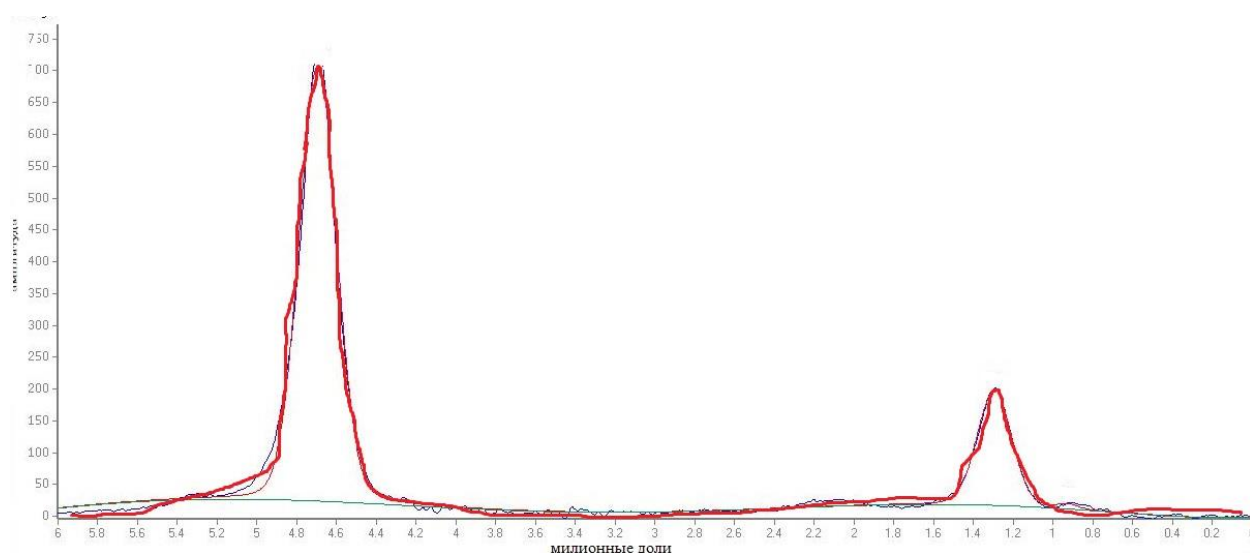


Рисунок 12 – Пациентка Д, 41 лет. Данные протонной МР-спектроскопии печени до начала лечения. Концентрация жира – 30%. Первый пик – пик воды, второй двойной пик – пик жира

Через 6 месяцев после начала терапии индекс массы тела уменьшился до 29, однако, по данным исследования печени методом протонной МР-спектроскопии, достоверного снижения содержания жира в паренхиме не отмечалось, количество жира – 29 %, спектр представлен на рисунке 13.

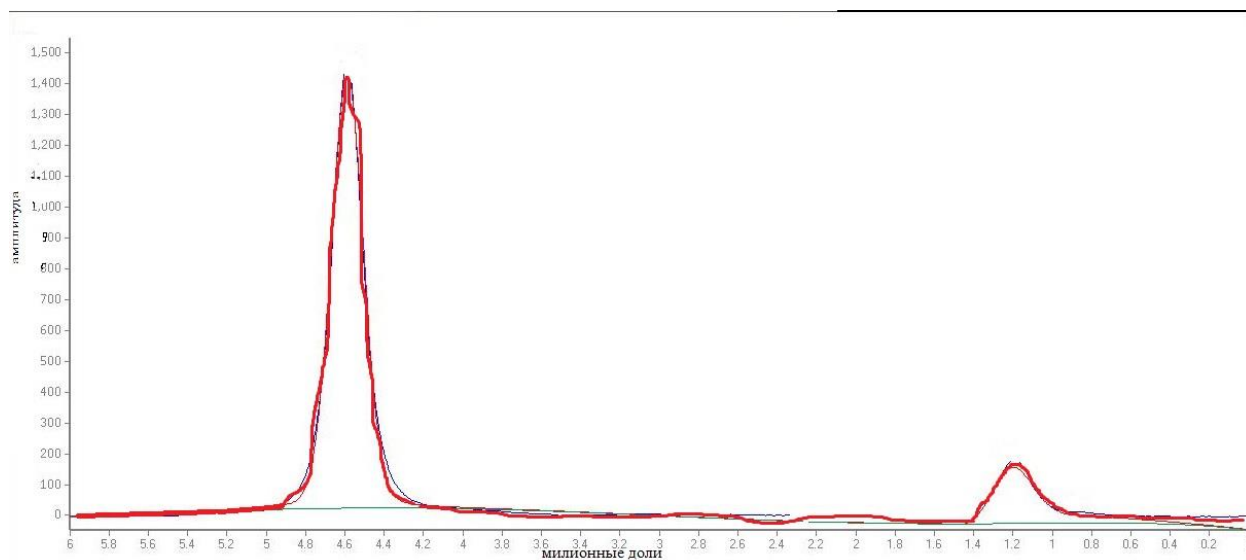


Рисунок 13 – Пациентка Д, 41 лет. Данные протонной МР-спектроскопии печени после 6 месяцев лечения. Концентрация жира – 29%. Первый пик – пик воды, второй двойной пик – пик жира.

Данный клинический случай демонстрирует отсутствие необходимости повторного выполнения МРС печени для контроля эффективности лечения пациентов с НАЖБП в форме НАСГ в шестимесячный срок, так как значимого изменения содержания жира в печени не отмечалось.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение проблемы НАЖБП в 21 веке поставило перед врачами и исследователями ряд новых задач. Большинство групп «печеночных» препаратов, применяемых в течение десятилетий для лечения НАЖБП, оказалось неэффективно, что показали внедренные в клиническую практику количественные методы оценки содержания жира в печени, а именно биопсия печени и МРТ [95]. Указанная ситуация в значительной мере связана с отсутствием устоявшихся диагностических протоколов [2].

Жировая инфильтрация печени при УЗИ определяется как повышенное отражение сигнала от паренхимы печени с жировыми изменениями. Степень жировой инфильтрации рассчитывается, как правило, сравнением с эталонными значениями или измерением разницы амплитуды эхо между печенью и почками [55]. Ультразвуковой метод достаточно корректно позволяет дифференцировать стеатоз при значительно выраженных изменениях (более 30%), при незначительном и среднем повышении липидной фракции печени (6-15%) чувствительность и специфичность метода существенно снижается (до 55.3% и 77% соответственно) [123]. Фиброзные изменения печени также увеличивают эхогенность тканей, что может привести к дополнительным ошибкам при обследовании пациентов со стеатогепатитом. И основными недостатками ультразвуковых исследований печени являются внутриисследовательская вариабельность и операторозависимость методик которые сами по себе снижают специфичность и чувствительность до 50-60% [124]. Таким образом, при доступности и относительной простоте, УЗИ безусловно является признанным скрининговым методом у больных с НАЖБП, но не может обеспечить эффективное мониторингирования из-за низкой воспроизводимости и невозможности количественной оценки содержания жира в печени. Для целей нашего исследования метод УЗИ использовался как скрининговый, для адекватного отбора пациентов в группу с уточненным НАЖБП, но не применялся при оценке

результатов лечения заболевания. По нашим данным нашего исследования лишь у 5 пациентов отмечался ложноположительный результат УЗИ.

КТ в диагностике стеатоза печени также имеет свои ограничения. Настройка аппаратов, используемые мощности, контрастные препараты и различные методики расчета значимо влияют на воспроизводимость результатов [73]. Большинство исследователей отмечают низкую диагностическую значимость КТ при НАЖБП, так как часто встречается умеренное повышение содержания жира с недостоверными характеристиками рентгенологического обследования [29,125]. К настоящему времени нет объективных данных об эффективности серийного КТ наблюдения динамики развития стеатоза печени, однако в ряде случаев использование методики считается информативным, например, у пациентов с метаболическим синдромом [126]. Воспроизводимый количественный анализ плотности печени и ее изменения в зависимости от содержания молекул триглицеридов затруднен из-за ряда факторов: параметры сканирования (напряжение на трубке, сила тока на трубке, питч), пациент-зависимые параметры (ИМТ и отложение железа в тканях). Кроме того, показатель плотности ткани в выбранном вокселе зависит от всех содержащихся метаболитов – при неизменном содержании триглицеридов, плотность может изменяться из-за соотношения железа и гликогена. Тем не менее, метод может служить хорошим дополнительным элементом первичной диагностики, при сомнительных результатах УЗИ. Так и в нашем исследовании метод КТ использовался для уточнения наличия жировой инфильтрации при первичном отборе пациентов в группы с жировой инфильтрацией печени и НАСГ, а также для дополнительного подтверждения достоверности метода протонной МРС посредством анализа корреляции. Повторное исследование пациентов методом не проводилось в связи с наличием лучевой нагрузки.

Нетипичная картина распределения избыточного жира в печени на томограммах или при УЗИ может быть частой причиной диагностических ошибок [2,72]. При использовании УЗИ и КТ присутствие жира в печени значительно снижает диагностические возможности этих методов в выявлении другой

патологии. В этом случае используются различные методики МРТ, в частности, техники подавления сигнала, что позволяет судить о структуре печени вне зависимости от содержания жира в паренхиме органа [78]. Используя этот подход в исследуемые группы, отбирались лишь пациенты, не имеющие очаговых изменений паренхимы печени.

Метод пункционной биопсии, позволяющий оценить гистологические характеристики жировой инфильтрации печени, считается «золотым стандартом» в диагностике НАЖБП и являлся преимущественным по сравнению с другими методиками.

При анализе гистологических данных отмечено более частое совпадение количественных результатов с методами МРТ и МР-спектроскопии, чем с заключениями патологов [6,127]. Кроме того, гистологические исследования жировой инфильтрации в значительной степени подвержены исследовательской вариабельности и далеко не всегда реально отражают процент паренхимы печени, замещенной жировыми включениями [109]. Также известны ограничения метода пункционной биопсии, связанные с инвазивностью и малым количеством гистологического материала, взятого для анализа. Особенности метода пункционной биопсии печени и возможность осложнений после процедуры, не позволяют рекомендовать его для многократных повторных обследований при изучении эффективности медикаментозных воздействий [128]. Таким образом, гистологические исследования в настоящее время имеют ограничения по применению, связанные с инвазивностью, индивидуальной трактовкой результатов и необходимостью проведения повторных вмешательств у пациентов с НАСГ.

Необходимо отметить, что использование пункционной биопсии особенно затруднено при обследовании детей. В этом случае значимость поиска альтернативных диагностических подходов неизмеримо возрастает. Вышеуказанные работы, на основании исследования достаточно большого массива пациентов с НАЖБП, предлагают МРС в качестве перспективной диагностической методики этой патологии, в том числе у детей. В рамках нашего

исследования эта перспектива также подтверждается, особенно данными по корреляции с пункционной биопсией.

Исследования последних лет также демонстрируют, что метод МРТ, и особенно методика протонной МРС, могут служить референтным методом для количественного определения жира в печени, в связи с их неинвазивностью и возможностью их неоднократного применения [129] Было продемонстрировано, что методика протонной МРС печени могут быть интегрированы в стандартный протокол исследования МРТ [130].

Согласно указанным выше исследованиям, при оценке эффективности МРТ методов для диагностики и мониторинга содержания триглицеридов в печени, предпочтение отдается протонной МРС, поскольку при этом проводится прямое измерение спектров воды и жира. В то время в других методиках жировая фракция определяется опосредованно с использованием интерференции сигналов. Кроме того, в большинстве обсуждаемых в данных публикациях визуализационных МРТ методик необходимо нивелировать факторы негетогенности магнитного поля, продольные и поперечные релаксационные эффекты [2,131]. Часто невозможно получить все необходимые для расчетов изображения на одной задержке дыхания, а использование множественных задержек дыхания или триггерного временного контроля приводит к регистрационным артефактам из-за позиционных смещений в паренхиме печени [132].

В последние годы предложено множество способов повышения качества МРТ исследований при НАЖБП, и их результативность вплотную приблизилась к эффективности протонной МРС, тем не менее последняя пока остается наиболее референтным методом [133]. При первичном обследовании достоверность количественных показателей протонных спектров печени, зависит от производителя томографа и мощности поля, качество спектров несколько выше на томографах с мощностью поля 3Т [100]. Стоит отметить, что для получения достоверных результатов при неоднократном исследовании одного и того же пациента, а тем более оценки динамики лечения, исследование необходимо



проводит на одном и том же томографе. В нашем исследовании была отмечена хорошая повторяемость и воспроизводимость при проведении исследований на одном и том же томографе.

Отечественный опыт исследования неалкогольной жировой инфильтрации печени с помощью протонной МРС ограничен. В связи с этим, исходя из существующих данных литературы, в ходе формирования протокола исследования печени методикой протонной МРС нами решался целый ряд методических задач.

Печень является относительно подвижным органом в связи с движением диафрагмы в процессе дыхания, учитывая, что печень расположена непосредственно под диафрагмой и окружена листками брюшины. Это создает дополнительные сложности при исследованиях, за счет присутствия воздуха в легочной ткани и жира в окружающих тканях. В связи с этим необходимо тщательно выбирать изучаемый сегмент печени, который должен быть расположен изолированно от легочной ткани, жировой клетчатки средостения и брюшной полости.

Из проблем, связанных с методикой МРС исследований, заслуживает внимания правильный выбор изучаемого сегмента печеночной ткани. При разработке методики большинство исследователей отмечало необходимость размещения вокселя вне зон прохождения сосудов и печеночных протоков, так как движение крови и желчи создают дополнительные артефакты. Кроме того, динамические исследования требуют определенных навыков оператора для правильного трехплоскостного позиционирования одной и той же изучаемой зоны. Распределение жира в печеночной ткани при жировой инфильтрации при НАЖБП относительно однородно и диагностические возможности при многовоксельных исследованиях не увеличиваются. Вероятно, при далеко зашедших стадиях стеатогепатита с тяжелым фиброзом, формированием цирротических изменений и очаговых процессов, диагностическое значение мультивоксельной МР-спектроскопии сегментов печени возрастает. В изученной

нами группе пациентов с относительно умеренными изменениями паренхимы печени, необходимости в мультिवоксельном исследовании отмечено не было.

Важно, чтобы позиция спектроскопического вокселя в паренхиме не менялась и исследования были выполнены в одну и ту же фазу дыхательного цикла (на вдохе или на выдохе), в других ситуациях спектроскопическая информация будет получена от разных сегментов ткани печени. Многие специалисты рекомендуют проводить исследование на выдохе с задержкой дыхания от 4 до 24 секунд, с несколькими повторными и предварительными подготовительными сканированиями для снижения влияния артефактов и получения достоверных данных [134]. Другие исследователи отдают предпочтение применению дыхательно-триггерных схем получения данных, когда сканирование автоматически синхронизируется с определенными фазами дыхания [135]. Проведенное нами сравнительное исследование двух вышеописанных методик коррекции по дыханию показало применимость обоих вариантов и выявило отсутствие достоверных различий в полученных спектроскопических данных. При этом исследования с использованием триггера по дыханию субъективно лучше переносятся пациентами, что особенно для тучных больных, которые физически не могли точно выполнить команды оператора по задержке и регулированию дыхания, в связи с конституциональными особенностями.

Точность методики МР-спектроскопии для выявления жировой инфильтрации печени оценена в группе пациентов со стеатогепатитом, которым для верификации диагноза была показана пункционная биопсия. Проведено сравнение количественных характеристик стеатоза, выявленных методами КТ, МРС и гистологическими исследованиями. Максимальная корреляция показателей показана при протонной МРС и гистологии. При компьютерной томографии, расчетные величины которой определяются по соотношению содержания жира в печени и селезенке, отмечены значимые погрешности в определении содержания жира в связи с техническими особенностями метода КТ.

В рамках отработки методики МРС было проведено сравнительное исследование содержания жира в печени у здоровых лиц и пациентов. Продемонстрированы достоверные диагностические возможности методики: у всех здоровых добровольцев ожидаемо зафиксированы нормальные значения уровня жира в ткани печени, а у пациентов подтверждено наличие жировой инфильтрации.

В нашей работе в результате анализа исследовательская воспроизводимость метода МРС при изучении спектральных данных несколькими исследователями у одних и тех же здоровых субъектов оценена внутриисследовательская ошибка составила 1,9%, что совпадает с результатами зарубежных авторов: в работе Laura E. Dichtel и соавторов, где была продемонстрирована внутрисследовательская ошибка на уровне 1,98 [136].

Резюмируя результаты исследований по разработке и обоснованию применения методики протонной МРС печени и формированию протокола обследования, можно заключить, что диагностические возможности определения жировой инфильтрации методикой МРС лучше, чем по данным УЗИ и КТ [4]. Важно, что сформированный нами протокол МРС позволяет исключить зависимость полученных данных от навыков исследователя, что является проблемой при УЗИ.

Кроме того, применение стандартизованного протокола МРТ позволяет проводить неоднократные обследования и получать воспроизводимые результаты.

Для проведения диагностики и динамического наблюдения при НАЖБП наиболее целесообразно применение одновоксельной МРС с использованием дыхательного временного триггера для максимально воспроизводимых и объективных данных. В настоящей работе мы не сравнивали МРС с визуализационными методами МРТ, которые также дают возможность количественной оценки содержания жира в печени, так как прецизионные возможности этих методов при умеренно выраженной инфильтрации печени и относительно малых изменениях показателей в ниже по данным разработчиков и исследователей [88].

Важным этапом работы было применение методики одновоксельной МРС для контроля за изменением степени жировой инфильтрации печени в ходе лечения. Для этого были подобраны больные с верифицированным диагнозом НАЖБП, в том числе со стеатогепатитом, лечение которых проводилось с использованием стандартных подходов, выбранных лечащим врачом.

Прогноз течения НАЖБП в основном зависит от факторов риска (ожирения, инсулинрезистентности, диабета 2 типа), поэтому лечение сосредоточено на снижении влияния этих факторов.

Многие исследования в 1980-2000-х годах продемонстрировали улучшение биохимических показателей и снижение жировой инфильтрации печени по данным различных методов исследований при поддержании здорового образа жизни и приверженности к сбалансированной диете [137]. Некоторые современные исследования с использованием метода МРТ количественно подтвердили эффективность как просто диеты [104], так и диеты в сочетании с различными физическими нагрузками [99]. Отмечено существенное снижение содержания жира в печени у пациентов с НАЖБП, в среднем на 40%, причем пропорционально степени постепенного снижения веса на 5-10% [138].

В наших исследованиях получено достоверное снижение содержания жира при стеатозе на фоне снижения веса на 5-7 % в течение 6 месяцев. Причем, у пациентов, не соблюдавших условия исследования (диета + физические нагрузки) и не добившихся снижения веса, не выявлено снижения содержания жира по данным МРС [2]. Снижение веса за счет дозируемых физических нагрузок и уменьшения калорийности питания проводилось на фоне приема эслицина (эссенциальных фосфолипидов). Достоверных данных о статистически значимом снижении содержания печеночного жира на фоне изолированного действия эслицина в настоящее время нет [139]. Поэтому, результаты исследования свидетельствуют о положительном эффекте комбинированного использования медикаментозного лечения и изменения образа жизни [2].

Медикаментозное лечение стеатоза печени не разработано. Большие надежды были связаны с применением препаратов, снижающих абсорбцию жира

(сибутрамин, орлистат) [108]. В исследованиях продемонстрирована эффективность препаратов, однако их применение связано с большим количеством побочных эффектов и в настоящее время не может быть рекомендовано [118].

Патогенетический обоснованное применение препаратов, повышающих чувствительность к инсулину (метформин, тиаглитазоны), было широко внедрено в клиническую практику [107]. Многочисленные работы показывают хорошие результаты лечения патологии печени, связанных с метаболическим синдромом, в том числе и по данным гистологического исследования. И только в последние годы в рандомизированных исследованиях отмечены непостоянство их эффектов и повышенный риск сердечных осложнений [109].

Был предложен целый ряд гепатопротекторов для лечения НАЖБП. Наиболее широко применяли урсodeоксихолиевую кислоту. Однако крупное рандомизированное исследование не выявило преимуществ применения препарата по сравнению с плацебо, что было отражено в Американских рекомендациях по НАЖБП 2012 года [117]. В отечественных официальных рекомендациях присутствуют указанные препараты, и используются в комплексном лечении пациентов с НАЖБП [4,7].

В нашем исследовании наблюдалась разная динамика изменения содержания жира в печени в группе пациентов со стеатозом печени и в группе пациентов с НАСГ. Подобные различия, в первую очередь, могут быть связаны со структурными изменениями паренхимы органа из-за развивающегося воспаления, это, в свою очередь приводит к замедлению выведения жира. В патогенезе НАСГ на первое место находит активность воспаления паренхимы. Следует отметить, что в работах, посвященных оценке динамики изменений в паренхиме печени, контрольное исследование проводят не ранее чем через 8-12 месяцев после начала лечения [140]. Вероятно, основным критерием ранней оценки эффективности лечения НАСГ должны выступать другие методики.

В нашей работе после первичной диагностики пациенты с НАСГ получали в течение 6 месяцев метформин и урсофальк. Учитывая характер процесса,

регламентированных назначений по физическим нагрузкам и снижению веса не предусматривалось, проводилась диетотерапия. По данным повторной протонной МРС в этой группе больных общей тенденции к снижению содержания жира в печени в эти сроки не выявлено, что согласуется с данными рандомизированных исследований [19].

В нашем исследовании подтверждена возможность достоверной диагностики НАЖБП методом МРС и впервые оценены результаты лечения НАЖБП в динамике. В большинстве зарубежных публикаций обсуждаются и комментируются результаты скрининговых исследований, без акцента на оценку эффективности медикаментозного лечения этой патологии.

Резюмируя результаты исследований групп пациентов со стеатозом печени и НАСГ можно утверждать, что методика протонной МРС может быть применена при оценке эффективности терапии этих заболеваний.

Современный этап развития метода МРТ дает основания предполагать, что в ближайшем будущем она может занять одно из ведущих мест в диагностике НАЖБП. Использование протонной спектроскопии печени в рамках стандартного МРТ обследования с целью оценки степени жировой инфильтрации, представляется обоснованным и перспективным.

## ВЫВОДЫ

1. Разработанная нами оптимизированная методика выполнения протонной МРС позволяет получить воспроизводимые результаты, высокий уровень повторяемости (стандартная ошибка – 0,15% в группе здоровых добровольцев и 1,26% в группе пациентов) и воспроизводимости (ошибка воспроизводимости методики –  $1.9\% \pm 0,8\%$  в группе здоровых добровольцев и  $2,3\% \pm 0,5\%$  в группе пациентов).

2. Сравнение данных протонной МРС с результатами биопсии больных с неалкогольной жировой болезнью печени показало достоверность метода в выявлении жира в печени и при оценке степени выраженности жировой инфильтрации. Коэффициент корреляции данных с результатами биопсии составил:  $r = 0,94$ ,  $p < 0,0001$ .

3. В результате лечения больных со стеатозом отмечалось уменьшение содержания жира в печени по данным протонной МРС (с  $22,4 \pm 11,5\%$  до  $13,5 \pm 10\%$ ,  $p < 0,001$ ). У 18 пациентов отмечалась нормализация содержания жира в печени ( $< 6,5\%$ ). Достоверного снижения содержания жира в печени по данным МР-спектроскопии в печени у пациентов с НАСГ по прошествии 6 месяцев терапии выявлено не было (до начала лечения –  $28,86 \pm 19\%$ , через 6 месяцев –  $26,7 \pm 15\%$ , при  $p = 0,19$ ).

4. Протонная МРС может быть использована для оценки терапии пациентов со стеатозом печени в шестимесячный срок. Ранняя оценка эффективности лечения у пациентов НАСГ с помощью МРС нецелесообразна.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Представленный в работе оптимизированный протокол одновоссельной спектроскопии с триггерной методикой синхронизации по дыханию, и аппаратная коррекция T2-релаксации позволяет использовать одновоксельную спектроскопию для получения достоверных и воспроизводимых результатов при протонной МРС печени и может быть использован для динамической оценки степени жировой инфильтрации у больных с НАЖБП.

2. При отсутствии вирусной инфекции клинических, лабораторных признаков гепатита, фиброзных изменений паренхимы печени по результатам МРС возможно подтвердить диагноз НАЖБП и исключить необходимость выполнения пункционной биопсии при нормальном уровне маркеров цитолиза печени.

3. Выполнение протонной МРС печени показано всем пациентам с НАЖБП при доступности соответствующего оборудования.

4. Выявление низкого содержания жира в печени (менее 5,0-6,5%) по данным протонной МРС ставит под сомнение диагноз НАЖБП и требует дальнейшего обследования пациента.



**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АГ – артериальная гипертензия.

АЛТ – аланинаминотрансфераза.

АСТ – аспартатаминотрансфераза.

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза.

ИМТ – индекс массы тела.

КТ – компьютерная томография.

ЛПВП – липиды высокой плотности.

МС – метаболический синдром.

МРС – магнитно-резонансная спектроскопия.

МРТ – магнитно-резонансная томография

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени.

НАСГ – неалкогольный стеатогепатит.

ПОЛ – перекисного окисления липидов.

СД – сахарный диабет.

СЖК – свободные жирные кислоты.

ТГ – триглицериды.

ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности.

ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности.

ХС-ЛПОНП – холестерин липопротеидов очень низкой плотности.

УДХК - урсодезоксихолевая кислота.

УЗИ – ультразвуковое исследование.

ЩФ – щелочная фосфатаза.

ЭФЛ – эссенциальные фосфолипиды.

HU – Hounsfield unit (единица Хаунсфильда).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Loos, R.J.F. Inherited susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease / R.J.F. Loos, D.B.Savage // *Diabetologia*. – 2009. – Vol.52. – №6. – P. 1000–1002.
2. Терновой, С.К. Применение магнитно-резонансной спектроскопии по водороду у пациентов с неалкогольной жировой инфильтрацией печени/ С.К. Терновой, Г.А. Ширяев, Д.В. Устюжанин // *Клиническая медицина*. – 2015. – №6(93). – С. 62-67.
3. Tarantino, G. Pathogenesis of hepatic steatosis: the link between hypercortisolism and non-alcoholic fatty liver disease / G.Tarantino, C.Finelli // *World journal of gastroenterology: WJG*. – 2013. – Vol.19. – №40. – P.6735.
4. Ивашкин, В.Т. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации / В. Т.Ивашкин, М. В.Маевская, Ч. С.Павлов и др. // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2016. – № 26(2). – С.24–42.
5. Idilman, I. S. A comparison of liver fat content as determined by magnetic resonance imaging-proton density fat fraction and MRS versus liver histology in non-alcoholic fatty liver disease / I.S.Idilman, O.Keskin, A.Celik et al. // *Acta Radiologica*. – 2016. – Vol.57. – №.3. – P.271-278.
6. Roldan-Valadez, E. In vivo 3T spectroscopic quantification of liver fat content in nonalcoholic fatty liver disease: Correlation with biochemical method and morphometry / E.Roldan-Valadez, E.Favila, M.Martínez-López et al. // *Journal of hepatology*. – 2010. – Vol.53. – №4. – P.732–737.
7. Лазебник, Л.Б. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации для терапевтов, третья версия / Л.Б.Лазебник, Е.В.Голованова, С.В.Туркина и др. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2021. – Т.1. – №1. – С.4–52.
8. Буторова, Л. И. Неалкогольная жировая болезнь печени как проявление метаболического синдрома: эпидемиология, патогенез, особенности

- клинического проявления, принципы диагностики, современные возможности лечения : пособие для врачей / – Москва: Форте принт, 2012. – С.48. – ISBN 978-5-905757-02-0
9. Ермолова, Т. В. Неалкогольная жировая болезнь печени: современный взгляд на проблему / Т.В.Ермолова, С.Ю.Ермолов, Е.Л.Беляева // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – №5. – С.26-35.
  10. Ludwig, J. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease / J.Ludwig, T.R.Viggiano, D.B.McGill // Mayo Clinic Proceedings. – 1980. – Vol.55. – №7. – P.434–438.
  11. Павлов, Ч.С. Современные методы ранней диагностики фиброза печени / Ч.С. Павлов, В.Б.Золотаревский, Ю.О.Шульпекова и др. // Клиническая медицина. – 2005. – Т.83. – №12. – С.58-60.
  12. Bellentani, S. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy / S.Bellentani, S.Saccoccio, F.Masutti et al. // Annals of internal medicine. – 2000. – Vol.132. – №2. – P.112–117.
  13. Машарова, А. А. Неалкогольный стеатогепатит: от патогенеза к терапии / А.А.Машарова, Н.Н.Данилевская // РМЖ. – 2013. – Т.21. – №31. – С. 1642-1645.
  14. Ивашкин, В.Т. Гастроэнтерология. Национальное руководство: краткое издание / В.Т.Ивашкин, Т.Л.Лапина // – Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2013. – С.480.
  15. Nugent, C. Evaluation and management of obesity-related nonalcoholic fatty liver disease / C.Nugent, Z.M.Younossi // Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology. – 2007. – Vol.4. – №8. – P.432-441.
  16. Hamaguchi, M. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease / M.Hamaguchi, T.Kojima, N.Takeda et al. // Annals of internal medicine. – 2005. – Vol.143. – №10. – P.722–728.
  17. Harrison, S.A. Vitamin E and vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis / S.A.Harrison, S.Torgerson, P.Hayashi // The American journal of gastroenterology. – 2004. – Vol.9.– №1. – P.100–101.

18. Bugianesi, E. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease / E.Bugianesi, E.Gentilcore, R.Manini et al. // Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG. – 2005. – Vol.100. – №5. – P.1082–1090.
19. Nonomura, A. Clinicopathologic study of alcohol-like liver disease in non-alcoholics; non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis / A.Nonomura, Y.Mizukam, M.Unoura et al. // Gastroenterologia Japonica. – 1992. – Vol.27. – №4. – P.521–528.
20. Павлов, Ч. С. Неалкогольная жировая болезнь печени в клинике внутренних болезней/ Ч. С. Павлов, Д. В. Глушенков, М. А. Буличенко и др.// РМЖ. – 2010. – Т. 18. – №. 28. – С. 1742-1748.
21. Елисеева, Л. Н. Особенности выявления неалкогольной жировой болезни печени в клинической практике / Л.Н.Елисеева, Т.М.Будашова, Т. Ю.Долганова и др. // Российские медицинские вести. – 2009. – Т.14. – №.1. – С.31-36.
22. Звенигородская, Л. А. Неалкогольная жировая болезнь печени: эволюция представлений, патогенетические акценты, подходы к терапии // Трудный пациент. – 2015. – Т.13. – №10-11. – С.37-43.
23. Мельниченко, Г.А. и др. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени при ожирении и ее взаимосвязь с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета 2-го типа / Г.А. Мельниченко, А.Ю.Елисеева, М.В.Маевская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2012. – Т.22. – № 2. – С.45–52.
24. Кособян, Е. П. Современные концепции патогенеза неалкогольной жировой болезни печени / Е.П.Кособян, О.М.Смирнова // Сахарный диабет. – 2010. – №1. – С.55-64.
25. Kim, R.B.Interindividual variability of chlorzoxazone 6-hydroxylation in men and women and its relationship to CYP2E1 genetic polymorphisms / R.B. Kim, D.O'Shea, G.R.Wilkinson // Clinical Pharmacology & Therapeutics. – 1995. – Vol.57. – №6. – P.645–655.

26. Lee, R.G. Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients // *Human pathology*. – 1989. – Vol.20. – №6. – P.594–598.
27. Verna, E.C. Role of fatty acids in the pathogenesis of obesity and fatty liver: impact of bariatric surgery / E.C. Verna, P.D. Berk // *Seminars in liver disease*. – 2008. – Vol.28. – №4. – P.407–426.
28. Gholam, P.M. Nonalcoholic fatty liver disease in severely obese subjects / P. M.Gholam, L.Flancbaum, J. T.Machan et al. // *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*. – 2007. – Vol.102. – №2. – P.399–408.
29. Heath, M.L. Abdominal adiposity and liver fat content 3 and 12 months after gastric banding surgery / M.L.Heath, L.Kow, J.P.Slavotinek et al. // *Metabolism*. – 2009. – Vol.58. – №6. – P.753–758.
30. Borra, R. Inverse association between liver fat content and hepatic glucose uptake in patients with type 2 diabetes mellitus / R.Borra, R.Lautamäki, R. Parkkola et al. // *Metabolism*. 2008. – Vol.57. – №10. – P.1445–1451.
31. Семендяева, М. Е. Неалкогольная жировая болезнь печени как медицинская и социальная проблема // *Клиническая практика*. – 2012. – №2(10). – С.71-80.
32. Lv, S. Review Article Noninvasive Quantitative Detection Methods of Liver Fat Content in Nonalcoholic Fatty Liver Disease / S.Lv, S.Jiang, S.Liu et al. // *Journal of clinical and translational hepatology*. – 2018. – Vol.6. – P.217–221.
33. Драпкина, О.М. Неалкогольная жировая болезнь печени-современный взгляд на проблему / О.М.Драпкина, В.И.Смирин, В.Т.Ивашкин // *Лечащий врач*. – 2010. – №5. – P.57.
34. Day, C.P. Steatohepatitis: a tale of two “hits”? / C.P.Day, O.F.W.James // *Gastroenterology*. – 1998. – Vol.114. – №4. – P.842–845.
35. Променашева, Т. Е. Роль оксидативного стресса и системы / Променашева, Т. Е., Колесниченко Л. С., Козлова Н. М. глутатиона в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2014. – №. 5 (99). – С. 80-83.
36. Зенков, Н. К. Антиоксидантные и противовоспалительные свойства новых водорастворимых серосодержащих фенольных соединений / Зенков, Е. Б.

- Меньшикова, Н. В. Кандалинцева и др. // Биохимия. – 2007. – Т.72. – №6. – С.790-798.
37. Cadenas, E. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging / E.Cadenas, K.J.A. Davies // Free radical biology and medicine. – 2000. – Vol.29. – №3–4. – P.222–230.
  38. Oliveira, C.P.M.S. Association of polymorphisms of glutamate-cystein ligase and microsomal triglyceride transfer protein genes in non-alcoholic fatty liver disease / C. P. M. S. Oliveira, J. T. Stefano, A. M. Cavaleiro et al. // Journal of gastroenterology and hepatology. – 2010. – Vol.25. – №2. – P.357–361.
  39. Valenti, L. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease / L.Valenti, A.Al-Serri, A.K.Daly et al. // Hepatology. – 2010. – Vol.51. – №4. P.1209–1217.
  40. Kantartzis, K. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene / K. Kantartzis, A. Peter, F. Machicao et al. // Diabetes. – 2009. – Vol.58. – №11. – P.2616–2623.
  41. Zheng, L. Effect of miRNA-10b in regulating cellular steatosis level by targeting PPAR- $\alpha$  expression, a novel mechanism for the pathogenesis of NAFLD / L.Zheng, G.C.Lv, J.Sheng et al. // Journal of gastroenterology and hepatology. – 2010. – Vol.25. – № 1. – P.156–163.
  42. Kantartzis, K. et al. The DGAT2 gene is a candidate for the dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans / K.Kantartzis, F.Machicao, J.Machann et al. // Clinical science. – 2009. – Vol.116. – №6. – P.531–537.
  43. Leclercq, I.A. CYP2E1 and CYP4A as microsomal catalyts of lipid peroxides in murine nonalcoholic steatohepatitis / I.A.Leclercq, G.C.Farrell, J.Field et al. // The Journal of clinical investigation. – 2000. – Vol.105. – №8. – P.1067–1075.
  44. Lu, S.C. Glutathione synthesis // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. – 2013. – Vol.1830. – №.5. – P.3143-3153.
  45. Dourado, D.F.A.R. Glutathione transferase: new model for glutathione activation / D.F.Dourado, P.A.Fernande, B.Mannervik et al. // Chemistry–A European

- Journal. – 2008. – Vol.14. – №31. – P.9591–9598.
46. Huang, Z.Z. Mechanism and significance of increased glutathione level in human hepatocellular carcinoma and liver regeneration / Z.Z.Huang, C.Chen, Z.Zeng et al. // *The FASEB Journal*. – 2001. – Vol.15. – №1. – P.19–21.
  47. Rolo, A.P. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / A.P.Rolo, J.S.Teodoro, C.M.Palmeira // *Free radical biology and medicine*. – 2012. – Vol.52. – №1. – P.59–69.
  48. Uysal, S. Some inflammatory cytokine levels, iron metabolism and oxidan stress markers in subjects with nonalcoholic steatohepatitis / S.Uysal, F.Armutcu, T.Aydogan et al. // *Clinical biochemistry*. – 2011. – Vol.44. – №17–18. – P.1375–1379.
  49. Kalhan, S.C. Plasma metabolomic profile in nonalcoholic fatty liver disease / S. C.Kalhan, L.Guo, J.Edmison et al. // *Metabolism*. – 2011. – Vol.60. – №3. – P.404–413.
  50. Monzón, C.G. Non-alcoholic steatohepatitis // *Journal of gastroenterology and hepatology*. – 2001. – Vol.24. – №8. – P.395–402.
  51. Kruger, F.C. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in the Western Cape: a descriptive analysis / F.C.Kruger, C.Daniels, M.Kidd et al. // *SAMJ: South African Medical Journal*. – 2010. – Vol.100. – №3. – P.168–171.
  52. Powell, E.E. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years / E. E.Powell, W.G. E.Cooksley, R.Hanson et al. // *Hepatology*. – 1990. – Vol.11. – №1. – P.74–80.
  53. Sumida, Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis / Y.Sumida, A.Nakajima, Y.Itoh // *World journal of gastroenterology: WJG*. – 2014. – Vol.20. – №2. – P.475.
  54. Hardwick, R.N. Diversity in antioxidant response enzymes in progressive stages of human nonalcoholic fatty liver disease / R.N.Hardwick, C. D.Fisher, M. J.Canet // *Drug metabolism and disposition*. – 2010. – Vol.38. – №12. – P.2293–2301.
  55. Vernon, G. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-

- alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults / G.Vernon, A.Baranova, Z.M.Younossi // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. – 2011. Vol.34. №3. P.274–285.
56. Browning, J.D. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity / J. D.Browning, L.S.Szczepaniak, R.Dobbins et al. // *Hepatology*. 2004. Vol.40, №6. P.1387–1395.
57. Lee, D.H. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease // *Endocrinology and Metabolism*. – 2020. – Vol.35. – № 2. – P.243–259.
58. Brunt, E.M. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions / E.M.Brunt, C.G.Janney, A.M.Di Bisceglie et al. // *The American journal of gastroenterology*. – 1999. – Vol.94. – №9. – P.2467–2474.
59. Brunt, E.M. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings / E.M.Brunt, D.E.Kleiner, L.A.Wilson et al.// *Hepatology*. – 2011. – Vol.53. – №3. – P.810–820.
60. Ивашкин, В.Т. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени / В.Т.Ивашкин, М.В.Маевская, Ч.С.Павлов и др. // – 2015. – P.11–12. URL: <https://www.rsls.ru/files/Guidelines-RSLS-NASH-2015-09-21.pdf>.
61. Kechagias, S. Established and emerging factors affecting the progression of nonalcoholic fatty liver disease / S.Kechagias, P.Nasr, J.Blomdahl et al. // *Metabolism*. – 2020. – Vol.111. – P.154183.
62. Colicchio, P. Non-alcoholic fatty liver disease in young adult severely obese non-diabetic patients in South Italy / P.Colicchio, G.Tarantino, F.Del Genio et al. // *Annals of nutrition and metabolism*. – 2005. – Vol.49. – №5. – P.289–295.
63. Platon, M.L. Noninvasive assessment of liver steatosis using ultrasound methods / M.L.Platon, H.Stefanescu, D.Muresan et al. // *Medical ultrasonography*. – 2014. – Vol.16. – №3. – P.236–245.
64. Mottin, C.C. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients / C.C.Mottin, M.Moretto, A.V.Padoin et al. // *Obesity surgery*. – 2004. – Vol.14. – № 5. – P.635–637.



65. Palmentieri, B. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis / B.Palmentieri, I.De Sio, V.La Mura et al. // *Digestive and Liver Disease*. – 2006. – Vol.38. – № 7. – P.485–489.
66. Морозова, Т.Г. Комплексная эластография печени: алгоритм выбора методики при диффузных заболеваниях печени / Т. Г. Морозова, А. В. Борсуков // *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. – 2015. – №3. – С.9-25.
67. Морозов, С.В. Применение эластографии для определения выраженности фиброза печени: результаты регистрационного исследования в России / С.В. Морозов, Ю.М. Труфанова, Т.В. Павлова и др. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2008. – №2. – С.40-48.
68. Променашева, Т.Е. Транзиторная эластография как метод неинвазивной диагностики неалкогольной жировой болезни печени / Т.Е. Променашева, Н.М. Козлова // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. – 2013. – Т.123. – №8. – С.56-60.
69. Bril, F. Performance of the SteatoTest, ActiTest, NashTest and FibroTest in a multiethnic cohort of patients with type 2 diabetes mellitus / F.Brill, M. J.McPhaul, M.P.Caulfield et al. // *Journal of Investigative Medicine*. – 2019. – Vol.67. – №2. – P.303–311.
70. Жирков, И.И. Стратегия диагностики неалкогольной жировой болезни печени / И.И. Жирков, А.В. Гордиенко, Д.Ю. Сердюков и др. // *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. – 2019. – №3(67). – С.195-200.
71. van Werven, J.R. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy / J.R.van Werven, H.A.Marsman, A. J.Nederveen et al. // *Radiology*. – 2010. – Vol.256. – № 1. – P.159–168.
72. Boll, D.T. Diffuse liver disease: strategies for hepatic CT and MR imaging / D.T.Boll, E.M.Merkle // *Radiographics*. – 2009. – Vol.29. – №6. – P.1591–1614.
73. Lawrence, D.A. Detection of hepatic steatosis on contrast-enhanced CT images: diagnostic accuracy of identification of areas of presumed focal fatty sparing /

- D.A.Lawrence, I.B.Oliva, G.M.Israel // American Journal of Roentgenology. – 2012. – Vol.199. – № 1. – P.44–47.
74. Cowin, G.J. Magnetic resonance imaging and spectroscopy for monitoring liver steatosis / G.J.Cowin, J.R.Jonsson, J.D.Bauer et al. // Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. – 2008. – Vol.28. – №4. – P.937–945.
75. Буторова, Е.А. Возможности магнитно-резонансной томографии в оценке мягких тканей вокруг верхних дыхательных путей у больных с ожирением и синдромом обструктивного апноэ во время сна / Е. А. Буторова, Е. М. Елфимова, М. А. Шария и др. // Вестник рентгенологии и радиологии. – 2017. – Т. 98. – № 2. – С. 79-85
76. Irwan, R. Assessment of the variations in fat content in normal liver using a fast MR imaging method in comparison with results obtained by spectroscopic imaging / R.Irwan, M.A.Edens, P.E.Sijens // European radiology. – 2008. – Vol.18. – №4. – P.806–813.
77. Machann, J. Hepatic lipid accumulation in healthy subjects: a comparative study using spectral fat-selective MRI and volume-localized <sup>1</sup>H-MR spectroscopy / J.Machann, C.Thamer, B.Schnoedt et al. // Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. – 2006. – Vol.55. – № 4. – P.913–917.
78. Cassidy, F.H. Fatty liver disease: MR imaging techniques for the detection and quantification of liver steatosis / F.H.Cassidy, T.Yokoo, L.Aganovic et al. // Radiographics. – 2009. – Vol. 29. – № 1. – P.231–260.
79. Szczepaniak, L.S. Measurement of intracellular triglyceride stores by <sup>1</sup>H spectroscopy: validation in vivo / L.S.Szczepaniak, E. E.Babcock, F.Schick et al. // American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism. – 1999. – Vol.276. – № 5. – P.E977–E989.
80. Donato, H. Liver MRI: from basic protocol to advanced techniques / H.Donato, M.França, I.Candelária et al. // European journal of radiology. – 2017. – Vol.93. – P.30–39.

81. Dixon, W.T. Simple proton spectroscopic imaging // Radiology. 1984. – Vol. 153. – № 1. – P.189–194.
82. O’Riordan, E. Manually respiratory-triggered single-shot fast spin-echo: a non-breath-hold T<sup>2</sup>-weighted method for liver lesion detection / E.O’Riordan, M.A.Haider, M.E.O’Malley et al. // Canadian Association of Radiologists Journal. – 2003. – Vol.54. – №5. – P.289.
83. Jaubert, O. Multi-parametric liver tissue characterization using MR fingerprinting: Simultaneous T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>2</sub><sup>\*</sup>, and fat fraction mapping / O.Jaubert, C.Arrieta, G.Cruz et al. // Magnetic resonance in medicine. – 2020. – Vol.84. – №5. – P.2625–2635.
84. Mozes, F.E. Mapping tissue water T<sub>1</sub> in the liver using the MOLLI T<sub>1</sub> method in the presence of fat, iron and B<sub>0</sub> inhomogeneity / F.E.Mozes, E.M.Tunncliffe, A.Moolla et al. // NMR in Biomedicine. – 2019. – Vol.32. – № 2. – P.e4030.
85. Thomsen, C. Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy / C.Thomsen,U.Becker, K.Winkler et al. // Magnetic resonance imaging. – 1994. – Vol.12. – № 3. – P.487–495.
86. Coombs, B.D. Two-point Dixon technique for water-fat signal decomposition with B<sub>0</sub> inhomogeneity correction / B.D.Coombs, J.Szumowski, W.Coshow // Magnetic resonance in medicine. – 1997. – Vol.38. – №6. – P.884–889.
87. Glover, G.H. Three-point Dixon technique for true water/fat decomposition with B<sub>0</sub> inhomogeneity correction / G.H.Glover, E.Schneider // Magnetic resonance in medicine. – 1991. – Vol.18. – № 2. – P.371–383.
88. Ma, J. Breath-hold water and fat imaging using a dual-echo two-point Dixon technique with an efficient and robust phase-correction algorithm // Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. – 2004. – Vol.52. – № 2. – P. 415–419.
89. Богданов А. В. Магнитно-резонансная спектроскопия (обзор литературы) //Вестник Кыргызско-Российского Славянского Университета. – 2016. – Т. 16. – №. 3. – С. 151-156.
90. Pykett, I.L. Nuclear magnetic resonance: in vivo proton chemical shift imaging.

- Work in progress. / I.L.Pykett, B.R.Rosen // Radiology. – 1983. – Vol.149. – № 1. – P.197–201.
91. Труфанов, Г.Е. Магнитно-резонансная спектроскопия / Г.Е.Труфанов, Л.А.Тютин, В.А. Фокин и др. // – Санкт-Петербург : Общество с ограниченной ответственностью "Медкнига"ЭЛБИ", 2008. – 239с. – ISBN 978-5-93979-205-9.
92. Jaganathan, N.R. Recent advances in MR imaging and spectroscopy. // – New Delhi, India : JAYPEE BROTHERS PUBLISHERS, 2005. – P.218–220. – ISBN 978-81806-1316-6.
93. Меладзе, Н.В.МР-спектроскопия в дифференциальной диагностике узловых образований молочных желез / Н.В. Меладзе, С.К. Терновой, А.Б. Абдураимов и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – Т. 11. – №S1. – С.78-79.
94. Мищенко, А.В. Возможности магнитно-резонансной спектроскопии в диагностике аденокарциномы предстательной железы / А.В.Мищенко, Д.Л.Дубицкий, Е.А. Москаленко и др. // Лучевая диагностика и терапия. – 2010. – №4(1). – С.62-67.
95. Lee, D.H. Imaging evaluation of non-alcoholic fatty liver disease: focused on quantification // Clinical and molecular hepatology. – 2017. – Vol.23. – №4. – P. 290.
96. Ринк, П.А. Магнитный резонанс в медицине // Москва: "Гэотар-мед", 2003. 247с. – ISBN 5-9231-0320-6, 0-632-05986-9.
97. Ricci, C. Noninvasive in vivo quantitative assessment of fat content in human liver / C.Ricci, R.Longo, E.Gioulis et al // Journal of hepatology. – 1997. – Vol.27. – № 1. – P.108–113.
98. Castera, L. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease / Castera L., Friedrich-Rust M., Loomba R // Gastroenterology. – 2019. – Vol.156. – №5. – P.1264-1281.e4.
99. Lazo, M. Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes / M.Lazo, S.Solga, F.Horska et al. // Diabetes care. –

2010. – Vol. 33. – №10. – P.2156–2163.
100. Kang, G.H. Reproducibility of MRI-determined proton density fat fraction across two different MR scanner platforms / G.H.Kang, I.Cruite, M.Shiehmorteza et al. // *Journal of magnetic resonance imaging*. – 2011. – Vol.34. – № 4. – P.928–934.
101. van Werven, J.R. Reproducibility of 3.0 Tesla magnetic resonance spectroscopy for measuring hepatic fat content / J.R.van Werven, J.M.Hoogduin, A.J.Nederveen et al. // *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*. – 2009. – Vol.30. – №2. – P.444–448.
102. Bravo, A.A. Liver biopsy / A.A.Bravo, S.G.Sheth, S.Chopra // *Journal of Medicine*. – 2001. Vol. – 344. – № 7. – P. 495–500.
103. Westerbacka, J. Dietary fat content modifies liver fat in overweight nondiabetic subjects / J.Westerbacka, K.Lammi, A.M.Häkkinen et al. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2005. – Vol.90. – № 5. – P.2804–2809.
104. Kirk, E. Dietary fat and carbohydrates differentially alter insulin sensitivity during caloric restriction / E.Kirk, D.N.Reeds, B.N.Finck et al. // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 136. – №5. – P.1552–1560.
105. Angelico, F. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver disease / F.Angelico, M.Del Ben, R.Conti et al. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2005. – Vol.90. – №3. – P.1578–1582.
106. Thomas, E.L. Pioglitazone added to conventional lipid-lowering treatment in familial combined hyperlipidaemia improves parameters of metabolic control: relation to liver, muscle and regional body fat content / E. L.Thomas, E.Potter, I.Tosi et al. // *Atherosclerosis*. – 2007. – Vol.195. – № 1. – P.e181–e190.
107. Uygun, A. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis / A.Uygun, A.Kadayifci, A.T.Isik et al. // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. – 2004. – Vol.19. – №5. – P.537–544.
108. Zelber–Sagi, S. A double-blind randomized placebo-controlled trial of orlistat for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease / S.Zelber–Sagi, A.Kessler, E.Brazowsky et al. // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. – 2006. – Vol.4.

- №5. – P.639–644.
109. Lavine, J.E. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial / J. E.Lavine, J. B.Schwimmer, M.L. Van Natta et al. // *Jama*. – 2011. – Vol. 305. – №16. – P.1659–1668.
110. Ratziu, V. A randomized controlled trial of high-dose ursodesoxycholic acid for nonalcoholic steatohepatitis / V.Ratziu, V.De Ledinghen, F.Oberti et al. // *Journal of hepatology*. – 2011. – Vol.54. – № 5. – P.1011–1019.
111. Фадеенко, Г.Д. Прогноз и эффективность лечения неалкогольного стеатогепатита. Роль генетических факторов / Г.Д.Фадеенко, Н.А.Кравченко, С.В.Виноградова // *Сучасна гастроентерологія*. – 2006. – Т. 4. – №30. – С.13.
112. Dasarathy, S. Double blind randomized placebo controlled clinical trial of omega 3 fatty acids for the treatment of diabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis / S.Dasarathy, J.Dasarathy, A.Khiyami et al. // *Journal of clinical gastroenterology*. – 2015. – Vol.49. – №2. – P.137.
113. Saikia, N. Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and New Therapeutic Approaches / N.Saikia, R.Tandon // *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease-ECAB*. – 2013. – P.77.
114. Ratziu, V. Lack of efficacy of an inhibitor of PDE4 in phase 1 and 2 trials of patients with nonalcoholic steatohepatitis / V.Ratziu, P.Bedossa, S.M.Francque et al. // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. – 2014. – Vol.12. – №10. – P.1724–1730.
115. Hadcock, J.R. In vitro and in vivo pharmacology of CP-945,598, a potent and selective cannabinoid CB1 receptor antagonist for the management of obesity / J.R.Hadcock, D.A.Griffith, P.A. Iredale et al. // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2010. – Vol.394. – №2. – P.366–371.
116. Ryznychuk, M.O. Obesity: The role of desynchronization and genetic factors in mechanisms of its development / M.O.Ryznychuk, V.P.Pishak // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2017. – Vol.8. – №1. – P.23–29.
117. Chalasani, N. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease:

- Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association / N.Chalasan, Z.Younossi, J.E.Lavine et al. // *Hepatology*. – 2012. – Vol.55. – №6. – P.2005–2023.
118. Vos, M.B. NASPGHAN clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children: recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) / M.B.Vos, S.H.Abrams, S.E.Barlow et al. // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. – 2017. – Vol.64. – №2. – P.319–334.
119. Терновой, С. К. Диагностическое значение протонной магнитно-резонансной спектроскопии печени по водороду в оценке терапии стеатоза и стеатогепатита / С. К. Терновой, Д. Т. Абдурахманов, Г. А. Ширяев // *Кардиологический вестник*. – 2014. – Т. 9. – № 3. – С. 105-110.
120. Bydder, G.M. Computed tomography attenuation values in fatty liver / G.M.Bydder, R.W.G.Chapman, D.Harry et al. // *Journal of Computed Tomography*. – 1981. – Vol.5. – №1. – P.33–35.
121. Шария, М.А. Опыт неинвазивного определения концентрации жира в печени с помощью магнитно-резонансной спектроскопии по водороду у пациентов с жировым гепатозом до и после лечения препаратом Эслидин / М. А. Шария, Г. А. Ширяев, В. Н. Титов, К. В. Иванова // *Вестник рентгенологии и радиологии*. – 2013. – № 2. – С. 50-54.
122. Терновой, С.К. Определение содержания жира в печени у пациентов с жировым гепатозом и стеатогепатитом методом протонной МР-спектроскопии / С. К. Терновой, Г. А. Ширяев, Д. В. Устюжанин и др.// *Медицинская визуализация*. – 2018. – Т. 22. – № 4. – С. 50-58. – DOI 10.24835/1607-0763-2018-4-50-58.
123. Lee, D.H. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease // *Endocrinology and Metabolism*. – 2020. – Vol. 35. – №.2. – P.243-259.
124. Strauss, S. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic

- assessment of fatty liver / S.Strauss, E.Gavish, P.Gottlieb et al. // American Journal of Roentgenology. – 2007. – Vol. 189. – № 6. – P.W320–W323.
125. Adams, L.A. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies / L.A. Adams, S.Sanderson, K. D.Lindor et al. // Journal of hepatology. – 2005. – Vol. 42. – № 1. – P.132–138.
126. Ross, R. Advances in the application of imaging methods in applied and clinical physiology // Acta diabetologica. – 2003. – Vol.40. – №1. – P.s45–s50.
127. Raptis, D.A. MRI: the new reference standard in quantifying hepatic steatosis? / D.A.Raptis, M.A.Fischer, R.Graf et al. // Gut. – 2012. – Vol.61. – №1. – P.117–127.
128. Nouredin, M. Utility of magnetic resonance imaging versus histology for quantifying changes in liver fat in nonalcoholic fatty liver disease trials / M.Nouredin, J.Lam, M.R.Peterson et al. // Hepatology. – 2013. – Vol.58. – №6. – P.1930–1940.
129. Ligabue, G. MR quantitative biomarkers of non-alcoholic fatty liver disease: technical evolutions and future trends / G.Ligabue, G.Besutti, R.Scaglioni et al. // Quantitative imaging in medicine and surgery. – 2013. – Vol.3. – № 4. – P. 192.
130. AlShaalan, R. Nonalcoholic fatty liver disease: Noninvasive methods of diagnosing hepatic steatosis / R.AlShaalan, M.Aljiffry, S.Al-Busafi et al. // Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association. – 2015. – Vol.21. – №2. – P.64.
131. Negrete, L.M. Inter-examination precision of magnitude-based MRI for estimation of segmental hepatic proton density fat fraction in obese subjects / L.M.Negrete, M.S.Middleton, L.Clark et al. // Journal of Magnetic Resonance Imaging. – 2014. – Vol. 39. – №5. – P.1265–1271.
132. Springer, F. Liver fat content determined by magnetic resonance imaging and spectroscopy / F.Springer, J.Machann, C.D.Claussen et al. // World journal of gastroenterology: WJG. – 2010. Vol.16. №13. P.1560.
133. Lee, S.S. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease / S.S.Lee,



- S.H.Park // World journal of gastroenterology: WJG. – 2014. – Vol. 20. – № 23. – P. 7392.
134. Machann, J. <sup>1</sup>H MR spectroscopy of skeletal muscle, liver and bone marrow / J.Machann, N.Stefan, F.Schick // European journal of radiology. – 2008. – Vol.67. – №2. – P.275–284.
135. Reeder, S.B. Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy / S. B.Reeder, I.Cruite, G.Hamilton // Journal of magnetic resonance imaging. – 2011. – Vol.34. – №4. – P.729–749.
136. Dichtel, L.E. Short and long-term reproducibility of intrahepatic lipid quantification by <sup>1</sup>H-MR spectroscopy and CT in obesity / L.E.Dichtel, A.Eajazi, K. K.Miller et al. //Journal of computer assisted tomography. – 2016. – Vol. 40. – №. 5. – P. 678.
137. Wang, R.T. Is weight reduction an effective therapy for nonalcoholic fatty liver?: A systematic review / R.T.Wang, R.L.Koretz, H.F.Yee Jr // The American journal of medicine. – 2003. – Vol.115. – №7. – P.554–559.
138. Kantartzis, K. High cardiorespiratory fitness is an independent predictor of the reduction in liver fat during a lifestyle intervention in non-alcoholic fatty liver disease / K.Kantartzis, C.Thamer, A.Peter et al. // Gut. – 2009. – Vol.58. – №9. – P.1281–1288.
139. Буеверов, А.О. Эссенциальные фосфолипиды в комплексной терапии стеатогепатита смешанного генеза / А. О. Буеверов, В. С. Ешану, М. В. Маевская и др. // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2008. – № 1. – С.17-23.
140. Patel, J. Association of noninvasive quantitative decline in liver fat content on MRI with histologic response in nonalcoholic steatohepatitis / J.Patel, R.Bettencourt, J.Cui et al. // Therapeutic advances in gastroenterology. – 2016. – Vol.9. – №.5. – P.692-701.