

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Решетова Мария Сергеевна

**Метаболический профиль у пациентов с алкогольной болезнью печени
и неалкогольной жировой болезнью печени**

3.1.30. Гастроэнтерология и диетология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Зольникова Оксана Юрьевна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Метабомика, метаболом и метаболомный профиль	11
1.2. Изменение метаболома как отражение митохондриальной дисфункции	17
1.3. Метаболомный профиль при алкогольной болезни печени.....	22
1.4. Метаболомный профиль при неалкогольной жировой болезни печени	24
1.5. Метаболомный профиль на фоне развития цирроза печени	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	30
2.1. Дизайн исследования по изучению метаболомного профиля пациентов с алкогольной жировой болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени	30
2.1.1. Характеристика контрольной группы	32
2.2. Дизайн исследования по изучению метаболомного профиля подгрупп пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной жировой болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени	33
2.3. Методы исследования	35
2.3.1. Клиническое обследование пациентов.....	35
2.3.2. Метаболомный анализ	36
2.4. Методы статистического анализа	39
2.4.1. Обработка пропущенных значений	40
2.4.2. Метод обогащения.....	43
2.4.3. Многофакторный анализ	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
3.1. Целевой метаболомный анализ сыворотки крови групп пациентов с алкогольной болезнью печени, неалкогольной жировой болезнью печени и группы контроля	45
3.2. Корреляционный анализ уровня метаболитов с данными лабораторных исследований.....	57

3.3. Результаты многофакторного анализа (метода главных компонент) при анализе полученных метаболитов и основных клинико-лабораторных показателей.....	60
3.4. Клинико-лабораторные данные пациентов с циррозом печени, включенных в исследование	69
3.5. Клинические наблюдения.....	102
3.5.1. Клиническое наблюдение 1	102
3.5.2. Клиническое наблюдение 2	105
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	130
ВЫВОДЫ	132
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Алкогольная болезнь печени и неалкогольная жировая болезнь печени представляют собой наиболее распространенные заболевания печени во всем мире [66, 85].

Употребление алкоголя является важной социально-значимой проблемой и ведущим фактором риска развития различных заболеваний. Ежегодно у более, чем 3 миллиона человек диагностируют алкогольную болезнь печени (АБП), и показатели смертности неуклонно растут (5,9% от всех смертей в мире) [112]. Алкогольная болезнь печени характеризуется многовариантностью повреждения паренхимы печени вследствие употребления алкоголя, хронизацией воспалительного процесса, развитием осложнений на терминальных стадиях заболевания [37].

В последние годы отмечается рост смертности и от заболеваний печени в исходе неалкогольной жировой болезни печени (280 000 смертей в 2019 году) [112]. Данное заболевание представляет собой гетерогенную группу заболеваний, значительно различающихся по совокупности этиопатогенетических факторов, скорости прогрессирования и прогнозу [1, 18, 85]. Вместе с тем, неалкогольная жировая болезнь печени является одной из ведущих причин развития гепатоцеллюлярной карциномы на доцирротической стадии заболевания [175].

Несмотря на различие этиологии, АБП и НАЖБП сходятся в универсальных патофизиологических каскадах. Согласно последним наблюдениям, среди ключевых звеньев патогенеза алкогольной и неалкогольной жировой болезни печени выделяют нарушение кишечной проницаемости, эндотоксемию, опосредованную активацию иннантного иммунитета, секрецию провоспалительных молекул. Однако специфические метаболические пути, ведущие к этим общим конечным точкам, могут существенно различаться [34, 67, 141].

Хроническое течение представленных нозологических форм, прогрессирование воспалительных процессов, риск развития осложнений на терминальных стадиях заболевания определяют актуальность поиска новых методов диагностики и лечения. Высокоэффективная жидкостная хроматография и тандемная масс-спектрометрия определены как «золотой стандарт» для идентификации специфичных метаболитов крови пациентов с различными нозологическими формами, в том числе с заболеваниями печени [53, 122, 124, 131, 178].

Исследования в этой области представляют значительный научный интерес и могут стать основой для разработки новых диагностических и прогностических подходов, что определяет актуальность настоящего диссертационного исследования.

Степень разработанности темы исследования

Метаболомное профилирование при хронических заболеваниях печени является активно развивающимся направлением, однако ряд аспектов остаётся недостаточно изученным. В современной литературе представлены работы, посвящённые метаболомным изменениям при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и алкогольной болезни печени (АБП), однако в большинстве из них анализируется лишь ограниченный набор метаболитов. Вместе с тем ранее не проводилось исследований, направленных на сравнительный анализ метаболомного профиля пациентов с алкогольной и неалкогольной жировой болезнью печени, а также на оценку зависимости изменений метаболома крови от клинического течения заболевания.

В Российской Федерации комплексные метаболомные исследования у пациентов с алкогольной и неалкогольной жировой болезнью печени не проводились.

Несмотря на изученную многофакторную природу патогенеза представленных заболеваний, в настоящее время сохраняются ограничения в

трактовке метаболических нарушений и метаболомных изменений, что подчеркивает необходимость углубленных исследований в этой области.

Цель и задачи исследования

Целью научно-квалификационной работы является изучить метаболомный профиль у пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени.

Задачи исследования:

1. Установить спектр метаболитов у пациентов с алкогольной и неалкогольной жировой болезнью печени на основании проведения метаболомного анализа образцов сыворотки крови.
2. Выявить взаимосвязь метаболомного профиля пациентов с алкогольной и неалкогольной жировой болезнью печени с клиническими проявлениями заболевания.
3. Выявить взаимосвязь метаболомного профиля пациентов с алкогольной и неалкогольной жировой болезнью печени с данными лабораторных/инструментальных методов обследования.

Научная новизна

В ходе настоящего исследования впервые в Российской Федерации проведена оценка метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени. Выявлены значимые различия в уровне концентраций исследованных метаболитов, позволившие идентифицировать специфические для каждой нозологической формы метаболические компоненты. Проведенный сравнительный анализ продемонстрировал не только ожидаемые различия, обусловленные этиологией, но и выявил общие патогенетические черты, такие как выраженные нарушения в аминокислотном и энергетическом обмене, что указывает на митохондриальную

дисфункцию как универсальный механизм повреждения гепатоцитов. Полученные данные создают основу для разработки диагностических панелей, основанных на метаболомных биомаркерах, и открывают новые перспективы для персонализированного подхода к ведению пациентов с хроническими заболеваниями печени.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты углубляют современные представления о патофизиологических механизмах формирования и прогрессирования алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени, а также о существующих между ними различиях на уровне метаболомного профиля. Выявленные изменения в концентрациях специфических метаболитов расширяют понимание ключевой роли митохондриальной дисфункции, нарушений окислительно-восстановительного гомеостаза, снижения детоксикационной функции печени и инсулинорезистентности в патогенезе исследованных заболеваний.

Методология и методы исследования

Методологическую основу исследования составили последовательное клиническое обследование, верификация диагноза с помощью современных лабораторных и инструментальных методов, а также последующий статистический анализ полученных метаболомных и клинических данных.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное и ведущее участие на всех этапах исследования: от разработки концепции и методологии до внедрения результатов в практику. В рамках работы автор провел обзор отечественной и зарубежной

литературы, сформулировал цели и задачи диссертации, участвовал в формировании когорты пациентов и их клинико-инструментальном обследовании. Автором была разработана электронная база данных, проведена статистическая обработка и комплексный анализ полученных результатов. На основе проведенного исследования автором сформулированы научные выводы, подготовлены практические рекомендации, а также материалы для докладов на международных конференциях и публикаций в рецензируемых научных журналах. Основные положения и выводы работы внедрены в клиническую практику и учебный процесс.

Положения, выносимые на защиту

1. Метаболомный профиль пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени различается по нарушениям исследованных метаболических путей, коррелируя с результатами лабораторно-инструментальных методов исследования.
2. Метаболомный профиль пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени существенно отличается от группы лиц без цирроза, демонстрируя выраженные признаки митохондриальной дисфункции, системного воспаления, глубокого нарушения энергетического и аминокислотного обмена, а также инсулинорезистентности.
3. По мере прогрессирования и развития декомпенсации заболевания выявлены значимые различия в метаболомном профиле пациентов, что находит отражение в проявлениях клинической картины, а также результатах лабораторно-инструментальных методов исследований.
4. Выделенные метаболомные факторы подтверждают синергию метаболических нарушений, которые наблюдаются у пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени и определяют патогенез прогрессирования заболеваний.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.30. Гастроэнтерология и диетология; область науки – медицинские науки; группе научных специальностей – клиническая медицина; направлениям исследований согласно пунктам 2, 3, 6, 11 и 18.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая достоверность полученных результатов обеспечена комплексным подходом, включающим значительный объем стандартных клинико-лабораторных данных и применение многомерных статистических методов, в частности анализа главных компонент, позволившего выявить устойчивые метаболомные паттерны. Сформулированные выводы являются статистически обоснованными и логически вытекают из проведенного анализа.

Основные результаты работы отражены в публикациях. Материалы диссертации были доложены на следующих конференциях: Международный XXVII Конгресс «Гепатология сегодня» (Москва, 17-18 марта 2023 года); 126 Весенняя сессия Национальной школы гастроэнтерологии, гепатологии РГА «Фундаментальные знания и клиническая практика» (Москва, 12-14 апреля 2024 года); Международный XXIX Конгресс «Гепатология сегодня» (Москва, 21-22 марта 2025 года); Международный Юбилейный XXX Конгресс «Гепатология Сегодня» (Москва, 20-21 марта 2026 года).

Основные положения исследования нашли практическое применение в работе Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко Сеченовского университета (директор клиники – академик РАН, профессор, д.м.н. В.Т. Ивашкин).

Апробация диссертационной работы проведена 15.05.2026 года на заседании кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Института клинической медицины имени Н. В. Склифосовского

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 8 научных работ, в том числе 3 в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, 1 иная публикация по результатам исследования, 1 свидетельство о государственной регистрации баз данных, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежных конференций).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием методов исследования, результатов исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений. Список литературы содержит 195 источника, из которых 27 отечественных и 168 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 9 рисунками, 19 таблицами, 34 диаграммами и 2 клиническими примерами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Метабомика, метаболом и метаболомный профиль

Метабомика – раздел системной биологии, которая изучает совокупность всех низкомолекулярных органических соединений, метаболитов и их взаимосвязи и изменчивости в биологической среде на фоне влияния различных физиологических, патологических, эпигенетических и внешних факторов [104]. *Метаболомом* называют полный качественный и количественный набор всех низкомолекулярных эндогенных метаболитов, присутствующих в биологической системе, доступный для качественного и количественного анализа с помощью современных аналитических методов [40]. Благодаря научным исследованиям, в настоящее время существенно расширены базы данных, в которых аннотировано более чем 200 тыс. различных метаболитов [93]. Некоторые вещества принимают активное участие в таких метаболических путях как цикл трикарбоновых кислот, окисление жиров и цикл мочевины. Поскольку малые молекулы являются промежуточными или конечными продуктами клеточного метаболизма, изменения метаболома отражают всю совокупность биохимических процессов, протекающих на внутри- и внеклеточном уровнях в ответ на различные эндогенные и экзогенные факторы. В настоящее время, установлено, что метаболом человека может изменяться под влиянием ряда лекарственных препаратов, диеты, изменения биохимической активности микробиоты кишечника, а также заболеваний различных органов и систем.

Первые работы, заложившие основу концепции «метаболомного отпечатка», появились в 1970-х годах, однако современный термин «метаболом» был сформулирован лишь на рубеже 1990-2000-х годов [180]. Дальнейшее развитие метабомики неразрывно связано с развитием высокоспециализированных аналитических технологий. На сегодняшний день установлены «золотые стандарты» исследования метаболома. Высокоэффективная жидкостная и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС

и ГХ-МС), а также спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектроскопия, ЯМР) являются наиболее эффективными аналитическими методами для проведения метаболомного анализа [11].

Метаболомные исследования принято подразделять на несколько видов в зависимости от условий выполнения и результатов анализа. Выделяют следующие варианты [71, 89]:

1) *Нецелевое метаболомное профилирование* – используется для одномоментного исследования максимально широкого круга метаболитов (~10000) в представленном биологическом образце. Как правило, этот подход предшествует последующему проведению целевого метаболомного анализа, определяя вектор дальнейших исследований.

2) *Целевой метаболомный анализ* направлен на точное измерение уровня концентраций определенных метаболитов. В одном анализе возможно определение от 10 до 500 молекул различных метаболических групп.

3) *Флюксомный анализ* позволяет оценить динамику изменения концентрации определенных метаболитов в реальном времени с использованием меченых изотопов.

4) *Метаболомный имиджинг* включает в себя исследования метаболома как *in vivo*, так и *in vitro*. Данный вид исследования применяется для изучения в режиме реального времени клеточно-, ткане- и органоспецифического метаболизма.

В настоящее время активно исследуется изменение метаболома при различных заболеваниях, поскольку, как было отмечено выше, он служит индикатором нарушения метаболического гомеостаза [12, 13]. Развитие патологических процессов связано с первоначальной активацией компенсаторных механизмов, а последующий срыв адаптации к патогенным воздействиям приводит к фазе декомпенсации и необратимому прогрессированию болезни. Метаболомный анализ позволяет отразить эти биохимические изменения и дает более глубокое понимание ключевых звеньев патогенеза различных нозологических форм. В аспекте клинической медицины метаболомные исследования представляют

интерес в рамках поиска новых биомаркеров развития и прогрессирования заболеваний, а также изучения потенциальных молекулярных мишеней для развития новых терапевтических подходов.

В отношении изучения патологических изменений печени различной этиологии ведется поиск особенностей метаболома пациентов, призванных прояснить патофизиологические аспекты развития заболеваний [10, 14, 112]. Особый интерес в метаболомных исследованиях представляют протеиногенные аминокислоты с разветвленной цепью (ВСАА) – валин, лейцин и изолейцин [194]. Будучи незаменимыми для человека, эти гидрофобные молекулы играют ключевую роль в поддержании белкового и энергетического гомеостаза. Постоянство соотношения уровня их концентраций (1,6:2,2:1,0) отражают баланс процессов катаболизма ВСАА, проходящих преимущественно в печени и мышцах [138].

Печень является ведущим органом, в котором происходит катаболизм ароматических незаменимых (фенилаланина, триптофана) и частично заменимой (тирозина) аминокислот (ААА) [46]. Названные молекулы являются важными предшественниками целого ряда физиологически значимых метаболитов, включая нейромедиаторы, главным образом дофамина и катехоламинов (адреналина, норадреналина) [178].

Нарушение метаболизма как ароматических аминокислот (ААА), так и аминокислот с разветвленной цепью (ВСАА), имеет важное клиническое значение. При хронических заболеваниях печени наблюдаются характерные разнонаправленные изменения концентраций ААА и ВСАА, что принято оценивать с помощью коэффициента Фишера (соотношение ВСАА/ААА), значение которого у пациентов с циррозом печени достоверно возрастает [77, 82]. В совокупности эти процессы могут коррелировать со степенью печеночно-клеточной недостаточности. Так, в исследовании He Xiaolong и соавт. было показано, что повышенный уровень фенилэтиламина – продукта декарбоксилирования фенилаланина – в головном мозге достоверно ассоциирован

с развитием печеночной энцефалопатии, что подтверждает роль этого ложного нейромедиатора в патогенезе данного осложнения цирроза печени [182].

Не менее интересны исследования в отношении метаболизма триптофана, в процессе катаболизма которого образуются различные сигнальные молекулы, в том числе кинуренин и серотонин. А на фоне активации провоспалительных звеньев патогенеза соотношение названных метаболитов резко изменяется [191].

Существенный вклад в метаболизм триптофана вносит и кишечная микробиота, разнообразие и функциональная активность которой достоверно меняется на фоне хронических заболеваний печени [88, 110, 181, 191, 195]. У пациентов с циррозом печени установлены существенные различия микробного разнообразия кишечника, маркеры повышенной кишечной проницаемости, наличие синдрома избыточного бактериального роста в тонкой кишке по сравнению с группой здоровых людей [4, 88, 150].

Триптофан представляет собой незаменимую ароматическую аминокислоту, которая поступает в организм человека не только с продуктами питания, но также может синтезироваться бактериальными представителями типа *Firmicutes*. Большая часть триптофана абсорбируется в тонкой кишке. В периферическом кровотоке 80-90% триптофана связывается с альбумином и в последующем включается в основной, кинурениновый (90%), путь метаболизма. Далее триптофан метаболизируется с помощью основных ферментов триптофан-2,3-диоксигеназы и индоламин-2,3-диоксигеназы. Первая из которых, экспрессируется преимущественно в печени, а индоламин-2,3-диоксигеназа продуцируется иммунными клетками периферической крови, дендритными клетками, микроглией, эпителиальными клетками. При этом установлено, что провоспалительные цитокины, интерферон- γ и ФНО- α способны повышать экспрессию данного фермента [78, 144, 190].

Часть неабсорбированного в тонкой кишке триптофана подвергается микробному катаболизму в индольном пути. Энтерохромаффинные клетки слизистой оболочки кишечника принимают участие в третьем, серотониновом, метаболическом пути триптофана с участием специфического фермента

триптофан-гидроксилазы 1, экспрессия которого может зависеть от метаболической активности микробиоты в отношении продукции короткоцепочечных жирных кислот [87].

На сегодняшний день в литературе представлены как положительные, так и негативные эффекты серотонина в отношении физиологии печени [30, 49]. На мышинной модели показано, что серотонин принимает участие в регенерации печени, восстанавливает перфузию тканей печени, регулируя микроциркуляцию [166]. В то же время опубликованы результаты, что серотонин может усугублять течение вирусных гепатитов и играть решающую роль в прогрессировании фиброза печени [167].

С учетом вовлечения микробиоты сразу в несколько путей катаболизма триптофана, обнаруженные изменения могут свидетельствовать не только о характере диеты, но и о потенциальных нарушениях метаболической активности кишечной микробиоты и инициации воспалительных процессов. Эти изменения находят отражение в клинических проявлениях, таких как печеночная энцефалопатия и инверсия сна у пациентов с ЦП, что еще раз подтверждает наличие функциональной оси «микробиота-кишка-печень» [125].

Установлено, что кишечная микробиота способна ремоделировать метаболизм клеток хозяина, путем взаимодействия со специфическими клеточными рецепторами и сигнальными путями [36]. В качестве лигандов и активаторов данных процессов могут выступать как бактериальные компоненты (липополисахариды (ЛПС), пептидогликаны, бактериальная ДНК), так и метаболиты микробного происхождения. Существуют данные, что концентрации молекул патогенного происхождения, таких как ЛПС, в 100 раз выше в портальном кровотоке, чем в периферической венозной крови. Таким образом, печень постоянно контактирует с так называемыми патоген-ассоциированными молекулярными структурами из-за уникальных анатомических и гемодинамических особенностей портальной системы. Портальная кровь насыщена как физиологически важными молекулами, так и патогенными

микроорганизмами, компонентами бактериальной стенки грамотрицательных бактерий, метаболитами кишечной микробиоты [186].

Исследования последних лет демонстрируют, что прогрессирование заболеваний печени опосредует развитие повышенной кишечной проницаемости. Снижение синтетической функции гепатоцитов, развитие гипоальбуминемии, нарушение связывания провоспалительных молекул и компонентов клеточных стенок бактерий, а также портосистемное шунтирование в совокупности приводят к активации патогенетического каскада реакций, лежащих в основе низкосистемного воспалительного ответа [70].

Существенный вклад в поддержание системного воспаления вносит дерегуляция иммунного ответа на уровне печеночных синусоидов. Взаимодействие патоген-ассоциированных молекулярных структур с клеточными рецепторами, расположенными на гепатоцитах и синусоидальных эндотелиальных клетках печени, инициирует секрецию специфических индукторов иммунного ответа, включая главные – комплекс гистосовместимости II класса (МНС II) и белки острой фазы. Как следствие, активация нейтрофилов, естественных Т-киллеров и лимфоцитов инициирует провоспалительные механизмы [70].

Описанные иммунновоспалительные изменения в последующем приводят к нарушению гомеостаза гепатоцитов, эндотелиальной дисфункции синусоидальных клеток печени, активации системного воспаления и прогрессированию фиброза печени [187].

Описаны различные классы веществ, которые представляют собой метаболиты, трансформированные или продуцируемые микроорганизмами в процессе их жизнедеятельности. В ходе метаболической активности микробиоты образуются или метаболизируются различные витамины, органические кислоты, короткоцепочечные жирные кислоты, желчные кислоты, жирные кислоты с разветвленной цепью, триптофан и его метаболиты, нейромедиаторы и прочее [28]. Динамическое взаимодействие микробиоты и организма человека определяется изменчивостью микробного разнообразия кишечника на фоне различных

эндогенных и экзогенных факторов, таких как диета, прием лекарственных препаратов, а также заболевания органов и систем [122].

Метаболитами, обладающими целым рядом важных для организма функций, являются витамины группы В [164]. Организм человека не может самостоятельно синтезировать витамины группы В. В качестве основного источника этих метаболитов выступают различные продукты питания [100, 192]. Вместе с этим, существуют данные, что кишечная микробиота напрямую способна регулировать уровень витаминов, за счет синтеза *de novo* и утилизации этих веществ в процессе жизнедеятельности [164]. В частности, витамин В7 (биотин) выступает в роли кофактора сразу в нескольких биохимических процессах, включая энергетический обмен, метаболизм жирных кислот, глюкозы и аминокислот [6, 110].

Ранние работы, указывают на то, что микробиота кишечника продуцирует большой пул этого витамина в свободной форме. Такой биотин доступен для абсорбции с участием натрий-зависимого мультивитаминного транспортера, через который в организм также поступает витамин В5 (пантотеновая кислота) и липоевая кислота [50, 52]. Показано, что дефицит биотина ассоциирован с развитием митохондриального гиперацетилирования и приводит к различным патологическим эффектам, оказывая влияние на клеточное дыхание и окислительно-восстановительный баланс. Эти изменения влекут за собой нарушение энергетического обмена и развитие оксидативного стресса [50, 52].

Вышеописанные процессы подчеркивают многофакторность патогенетических каскадов развития заболевания, замыкая круг метаболических реакций на митохондриях и их функциональной активности.

1.2. Изменение метаболома как отражение митохондриальной дисфункции

Патогенез АБП и НАЖБП, несмотря на различие этиологических факторов, характеризуется универсальными патофизиологическими процессами, определяющими выраженность клинической картины и прогрессирование заболевания. Одним из ключевых звеньев, инициирующих развитие

патологических изменений, выступает митохондриальная дисфункция [127, 128, 129]. Возникающие вслед за этим угнетение β -окисления жирных кислот, дисбаланс окислительно-восстановительного гомеостаза, нарушение работы дыхательной цепи и, как следствие, энергетического обмена в совокупности определяют развитие необратимых повреждений гепатоцитов и активацию фиброгенеза в печени.

Клинически митохондриальная дисфункция находит отражение в ряде основных синдромов, определяющихся у пациентов с АБП и НАЖБП [128].

Выраженный астенический синдром и снижение толерантности к физической нагрузке определяются у большинства пациентов с заболеваниями печени. Патогенез данного состояния в первую очередь определяется снижением синтеза аденозинтрифосфата (АТФ) как в гепатоцитах, так и в скелетной мускулатуре. Нарушение β -окисления жирных кислот, проявляющееся в характерном накоплении длинноцепочечных ацилкарнитинов, особенно критично при длительных физических нагрузках, лишает мышечную ткань основного энергетического субстрата. Снижение активности пируватдегидрогеназного комплекса и ограничение поступления пирувата в цикл трикарбоновых кислот способствуют его восстановлению до лактата. Развивающийся при этом лактат-ацидоз в сочетании с повышением соотношения лактат/пируват, свидетельствующим о сдвиге редокс-баланса в сторону восстановления ассоциированы с нарушением энергетического обмена и снижением функциональной активности скелетных мышц [16, 102].

Нарушение липидного обмена, в частности митохондриального β -окисления, приводит к аккумуляции токсичных липидных промежуточных метаболитов, таких как диацилглицериды и церамиды, что потенцирует прогрессирование стеатоза печени [65]. Опосредованная данными процессами липотоксичность инициирует оксидативный стресс, а последующее усугубление инсулинорезистентности замыкает порочный круг метаболических нарушений, определяя прогрессирование заболевания [139].

Нарушение энергетического гомеостаза гепатоцитов определяет развитие и прогрессирование печеночно-клеточной недостаточности. Снижение синтеза АТФ приводит к системному изменению энергозависимых процессов, определяющих синтетическую и детоксикационную функции печени [127]. По мере прогрессирования заболевания и потенцирования митохондриальной дисфункции, клинически у пациентов определяются признаки гипоальбуминемии, холестаза и печеночной энцефалопатии [84].

В последние десятилетия метаболомные исследования предоставляют уникальные данные для оценки функционального состояния митохондрий – ключевых органелл, регулирующих клеточный гомеостаз. Митохондрии выступают в качестве фундаментальных регуляторов множества процессов, жизненно важных для макроорганизма, включая энергетический обмен, системный метаболизм в целом, а также управление процессами пролиферации, дифференцировки, апоптоза иммунокомпетентных клеток [128].

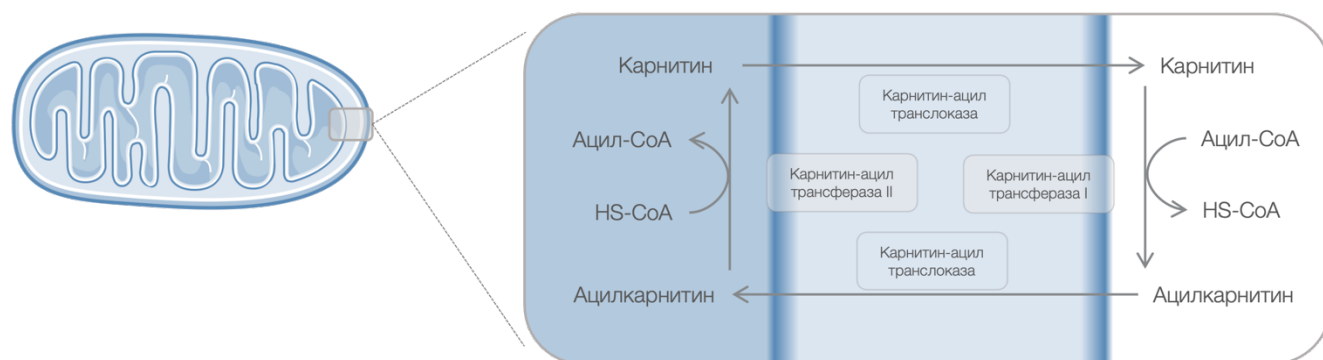
На внутренней мембране митохондрий всех эукариот расположена система транспортных белков, дыхательная цепь переноса электронов, необходимая для процесса окислительного фосфорилирования. Митохондрии принимают непосредственное участие в окислении жиров, цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса), а также регуляции обмена ионов Ca^{2+} [129]. Так называемая кальциевая сигнализация выступает центральным механизмом, определяющим реализацию иммунного ответа.

В своих работах Bonifaz L. C. и соавт. продемонстрировали, что иммунореактивность Т-лимфоцитов реализуется за счет поддержания гомеостаза Ca^{2+} внутриклеточными митохондриями [29]. Последующие наблюдения подтвердили гипотезу о том, что митохондрии способны модулировать фенотип иммунных клеток, за счет регуляции внутриклеточного метаболизма. А значит, нарушение функционирования митохондрий может потенциально лежать в основе различных патологических процессов (аутоиммунные заболевания, воспаление, иммунодефициты) [133].

Митохондриальная дисфункция приводит к двум фундаментальным патологическим состояниям: развитию энергетического дисбаланса и окислительного стресса [172]. В связи с этим, в качестве наиболее очевидных метаболомных маркеров, отражающих внутримитохондриальные процессы, мы можем рассматривать различные молекулы, которые непосредственно принимают участие в энергетическом обмене, выступают в роли кофакторов и субстратов в таких реакциях, как цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) [81, 145, 168].

Не менее важным для энергетического метаболизма является коэнзим А (КоА), структурным предшественником которого выступает витамин В5 (пантотеновая кислота) [177]. КоА служит универсальным переносчиком ацильных групп, и его дефицит или нарушение баланса между свободным КоА и ацил-КоА приводит к глобальному торможению энергетических путей: β -окисления, цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования.

Бета-окисление (β -окисление) жирных кислот в митохондриях, наравне с гликолизом, служит основным механизмом энергетического синтеза в большинстве органов и тканей (кроме центральной нервной системы и эритроцитов). Однако, мембрана митохондрий непроницаема для таких макромолекул, как длинноцепочечные жирные кислоты. В данном случае задействуется транспортная система «карнитиновый челночный транспорт» (Рисунок 1). L-карнитин связывается с активированными жирными кислотами, и с помощью специфических транспортеров данный комплекс преодолевает наружную и внутреннюю мембрану митохондрий. В последующем, карнитин-пальмитоилтрансфераза освобождает карнитин, который возвращается назад в цитозоль клетки [113, 171].



Примечание: Ацил-КоА – производное кофермента А (КоА), к которому присоединена ацильная группа жирной кислоты, HS-КоА – кофермента А (КоА)

Рисунок 1 – Транспортная система «карнитиновый челночный транспорт»

Ранние работы демонстрируют, что карнитин потенциально способен регулировать клеточное и митохондриальное соотношение свободного КоА и Ацил-КоА, тем самым принимая участие в связывании и удалении излишних ацильных групп из организма, а также транспорте коротких и средних ацильных групп из пероксисом в митохондрии [16, 113]. Некоторыми авторами была проведена оценка гипотезы, что ацилкарнитин способен индуцировать внутриклеточную пролиферацию митохондрий, а также оказывать положительное влияние в отношении возрастных изменений на клеточном уровне [161]. Беря во внимание физиологическую роль карнитина в функционировании митохондрий, многие авторы рассматривают накопление короткоцепочечных, среднецепочечных и длинноцепочечных ацилкарнитинов как проявление митохондриальной дисфункции [123].

Катаболизм вышеописанных ВСАА также протекает с участием митохондрий [72]. В процессе катаболизма ВСАА «теряют» атомы углерода и вступают в цикл трикарбоновых кислот в качестве молекул сукцинил-КоА (валин и изолейцин) и ацетил-КоА (лейцин и изолейцин), обладающих глюкогенным и кетогенным свойствами соответственно [138].

Помимо вышеуказанных метаболитов, метаболомные исследования последних лет подтверждают существенную роль ацетата, пропионата и бутирата в функционировании митохондрий [60]. В особенности на клеточной модели

энтероцитов было показано, что дефицит бутирата приводит к подавлению сразу нескольких энергетических метаболических путей (β -окисления жирных кислот, цикла трикарбоновых кислот, окислительного фосфорилирования) [183].

Другим важным для гомеостаза митохондрий метаболитом является лактат, который образуется в результате восстановления пирувата, катализируемого лактатдегидрогеназой. Он играет важную роль в контексте производства энергии и поддержания метаболического гомеостаза [51, 164].

1.3. Метаболомный профиль при алкогольной болезни печени

Алкогольная болезнь печени (АБП) наравне с заболеваниями печени вирусной этиологии и НАЖБП остается лидирующей причиной развития цирроза печени во всем мире [26].

Установлено, что риск развития тяжелой формы алкогольного гепатита у пациентов, употребляющих алкоголь в гепатотоксических дозировках, неодинаков. В одном случае АБП может быть представлена клинически легко протекающими формами, в другом – отмечается формирование терминальных стадий заболевания с развитием цирроза печени. Вместе с этим, тяжелый алкогольный гепатит нередко осложняется присоединением вторичной бактериальной инфекции, которая может приводить к полиорганной недостаточности и реакции системного воспаления [26, 34]. Развитие острой печеночной недостаточности на фоне хронической ассоциировано с высоким риском краткосрочной летальности (смерть в течение <28 дней после госпитализации) [107].

Вариабельность клинической картины определяется индивидуальной предрасположенностью к развитию заболевания. По данным литературы, определенный вклад в развитие АБП вносят демографические, генетические, экологические и метаболические факторы риска. Исследования последних лет направлены на изучение факторов, способных отягчать течение заболевания, вызывая развитие фиброза печени и увеличивая риск летального исхода [67, 96, 107, 124].

Этанол – остается основным этиологическим фактором развития алкогольной болезни печени [37]. Метаболизм этанола с участием алкогольдегидрогеназы, системы микросомального этанолового окисления и каталаз пероксисом приводит к образованию высокотоксичного соединения ацетальдегида [146]. Вместе с тем, результаты исследования на животной модели демонстрируют уменьшение количества жировой ткани в рамках гиперлипоза на фоне развития инсулинорезистентности. При этом наблюдался обратный транспорт триглицеридов в печень и накопление липидных капель в гепатоцитах [68]. Прямое и опосредованное повреждение митохондрий способствует выраженному нарушению липидного обмена и энергетического гомеостаза [38]. Необратимые внутриклеточные процессы приводят к повреждению гепатоцитов и активации провоспалительных звеньев иммунитета. Вместе с этим, свой вклад в патогенез вносят изменение биоразнообразия кишечной микробиоты, синдром избыточного бактериального роста (СИБР) и повышенная кишечная проницаемость [4, 24].

Диагноз алкогольной болезни печени устанавливается при подтвержденном заболевании печени вследствие систематического употребления этанола в гепатотоксичных дозах (>30 г этанола в день у мужчин или >20 г/день у женщин) [7]. Согласно клиническим рекомендациям, диагноз можно заподозрить на основании анамнестических и клинических данных, результатов лабораторных и инструментальных методов исследования. В сложных диагностических случаях целесообразно рассмотреть морфологическую верификацию [26]. Гистологическая картина при алкогольном гепатите наиболее соответствует стеатогепатиту и сочетает в себе признаки баллонной дистрофии и воспаления, которое представлено полиморфноклеточным нейтрофильным инфильтратом. Однако, выявленные признаки протоковой (дуктулярной) реакции, холестаза и тельца Мэллори-Денка, а также синусоидальный и перипеллюлярный фиброз могут быть выявлены и при стеатогепатите в рамках неалкогольной жировой болезни печени [39]. Таким образом, даже с учетом результатов гистологического исследования верификация диагноза остается довольно трудной для практикующего врача.

Rachakonda V. и соавт. при проведении крупного метаболомного анализа сыворотки крови пациентов с АБП на разных стадиях заболевания выявили статистически значимые различия между различными биохимическими путями, включая метаболизм глюкозы и липидов, гомеостаз желчных кислот, катаболизм белков, окислительный стресс и процессы воспаления. По сравнению с пациентами с циррозом, у пациентов с тяжелым алкогольным гепатитом наблюдалось значительное снижение концентрации трех основных метаболитов фосфолипидов – холина, глицерофосфохолина, глицерол-3-фосфата и повышение уровня холестерина и сфингозина. Авторы рассматривают данные изменения в контексте нарушения процессов ремоделирования клеточной мембран у пациентов с гепатитом. Вместе с этим у пациентов с тяжелым гепатитом были отмечены нарушения обмена желчных кислот, повышение уровня глюкуроната, а также метаболитов цикла трикарбоновых кислот [170].

1.4. Метаболомный профиль при неалкогольной жировой болезни печени

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) клинически может быть представлена стеатозом и стеатогепатитом, а также может прогрессировать до цирроза печени. Установлено, что на фоне НАЖБП существенно выше риск развития гепатоцеллюлярной карциномы на доцирротической стадии заболевания [137].

Молекулярно-патофизиологические аспекты развития этой нозологической формы остаются не до конца ясны. В большинстве случаев НАЖБП сочетается с заболеваниями, ассоциированными с метаболическим синдромом. На настоящий момент установлена существенная роль ассоциированных заболеваний, таких как сахарный диабет второго типа и инсулинорезистентность, гипертоническая болезнь, избыточная масса тела и ожирение [141]. На фоне НАЖБП наблюдаются изменения обмена глюкозы и липидов, энергетического обмена и явления митохондриальной дисфункции, в литературе значительное внимание уделяется роли измененной кишечной микробиоты и повышенной кишечной проницаемости

[21, 119, 131]. Активация липополисахаридами толл-подобных рецепторов, расположенных на гепатоцитах, звездчатых клетках печени и клетках Купфера, инициирует каскад реакций с вовлечением ядерного фактора транскрипции (NF- κ B), и последующую активацию инфламмасом с секрецией провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 β и интерлейкин-18 [71].

Многие представители микробиоты в процессе жизнедеятельности и утилизации углеводов способны продуцировать эндогенный этанол [116]. На животной модели с использованием генетически модифицированных штаммов *Klebsiella pneumoniae* была смоделирована картина стеатогепатита в исходе НАЖБП. Chen X. и соавт. продемонстрировали существенное негативное влияние синтезируемого бактериями этанола на целостность и функцию митохондрий за счет образования митохондриальных активных форм кислорода и повреждения митохондриальной ДНК. С помощью электронной микроскопии были отмечены характерные морфологические признаки митохондриальной дисфункции, набухание митохондрий и разрушение крист. Анализ экспрессии специфических белковых маркеров, подтвердил изменения функциональной активности митохондрий [79].

В метаболомных исследованиях с участием пациентов с установленным диагнозом НАЖБП показано, что уровень вторичных неконъюгированных желчных кислот и общих вторичных желчных кислот положительно коррелировал с составом кишечной микробиоты (*Bacteroidaceae*, *Bacteroidales*, *Lachnospiraceae*). Установлена положительная корреляция между стадией фиброза печени и повышением уровня желчных кислот (первичных и вторичных) в сыворотке и в образцах стула пациентов [56].

В исследовании с участием пациентов Schofield Z. и соавт. подтвердили нарушение метаболизма глюкозы и концентрации аминокислот с разветвленной цепью (BCAA), лактата и бетаина у пациентов с НАЖБП [64].

Провоспалительные цитокины, в частности фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), ингибируют окислительное фосфорилирование и повреждают митохондриальную ДНК. Дефицит бутирата, критически важного для

энергообеспечения митохондриального β -окисления в гепатоцитах, усугубляет энергетический дисбаланс. Параллельно дислипидемия, обнаруживаемая у пациентов с НАЖБП, приводит к перегрузке гепатоцитов свободными жирными кислотами. Их неполное β -окисление в митохондриях завершает порочный круг через накопление токсичных метаболитов, усиление окислительного стресса и прогрессирование митохондриальной дисфункции [117].

1.5. Метаболомный профиль на фоне развития цирроза печени

Цирроз печени – как исход большинства хронических заболеваний печени ассоциирован с повышенным риском смертности во всем мире. Среди лидирующих факторов развития цирроза печени, по данным демографических исследований, – вирусы гепатита В и С, употребление алкоголя в гепатотоксических дозировках и заболевания, ассоциированные с метаболическим синдромом. С учетом развития и совершенствования методов профилактики и лечения вирусов гепатита, а также увеличения демографических показателей употребления алкоголя, ожирения и инсулинорезистентности, в ближайшее десятилетие ожидается существенный рост заболеваемости алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени. А вместе с этим существенно увеличится и распространенность цирроза в исходе данных нозологических форм [5, 35].

При декомпенсации заболевания печени наблюдается развитие осложнений, ассоциированных с циррозом печени, таких как асцит, печеночная энцефалопатия, кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода и желудка. Увеличивается риск присоединения бактериальной инфекции, в том числе спонтанного бактериального перитонита, а также развития полиорганной недостаточности [2, 9, 27, 148].

Работы последних лет демонстрируют то, что в основе прогрессирования заболевания и развития внепеченочной органной недостаточности лежит системное воспаление, митохондриальная дисфункция и развитие окислительного стресса [188, 189]. Патогенез мультисистемного поражения при циррозе печени во

многим определяется гемодинамическими нарушениями, возникающими вследствие портальной гипертензии. Многие исследователи подчеркивают центральную роль спланхической и системной вазодилатации с формированием синдрома гипердинамического кровообращения. Данные патофизиологические сдвиги составляют основу для развития таких тяжёлых внепеченочных осложнений, как гепаторенальный синдром, гепатопульмональный синдром и портопульмональная гипертензия [22, 133].

В перспективе метаболомных исследований представляет интерес поиск молекулярных маркеров прогрессирования заболевания. На настоящий момент работы последних лет демонстрируют существенные изменения метаболомного профиля пациентов с циррозом печени.

Печеночная энцефалопатия (ПЭ) является одним из значимых предикторов неблагоприятного прогноза пациентов с ЦП [92]. Основной профилактикой ПЭ является ликвидация провоцирующих факторов (СИБР, кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода (ВРВП) и желудка (ВРВЖ). Преимущественно процесс дезинтоксикационной функции аммиака протекает в скелетной мускулатуре, за счет последовательной ферментной работы глутаматдегидрогеназы и глутаминсинтетазы [58, 182]. Установлено, что в данный процесс непосредственно вовлечены аминокислоты с разветвленной цепью (ВСАА) [184]. Это отражено в ранних работах, посвященных изучению «ложных нейротрансмиттеров». Авторами была выдвинута гипотеза о роли аминокислот с разветвленной цепью в патогенезе ПЭ [103]. Было отмечено, что при прогрессировании хронических заболеваний печени отмечается снижения уровня ВСАА в плазме пациентов с ЦП [58]. Многие современные работы посвящены исследованию потенциально синергического действия аминокислот ВСАА и L-карнитина. В своей работе Tajiri Kazuto и соавт. предположили наличие скрытой биохимической связи L-карнитина (C0) и ВСАА и ее роли в развитии печеночной энцефалопатии на фоне ЦП [108]. А ряд авторов предприняли попытки клинического исследования эффекта комбинированной терапии ПЭ [116].

Однако, высокие уровни аммиака встречаются не у всех пациентов с ЦП. Предполагается роль и других метаболитов в развитии данного осложнения. Некоторые авторы статей предполагают смещение катаболизма триптофана в сторону образования нейротоксичных соединений кинуренинового пути на фоне прогрессирования заболевания печени. В частности, есть данные, описывающие потенциальную роль ксантуреновой кислоты, метаболита триптофана, содержащейся в клеточной мембране эукариот. На мышинной модели продемонстрировано, что ксантуреновая кислота способна проходить через гематоэнцефалический барьер [130]. Wang Q. и соавт. показали, что у пациентов с ЦП (различной этиологии) и печеночной энцефалопатией наблюдалось повышение уровня 3-гидроксикинуренина, 5-гидрокситриптофола, 5-метокси-3-индолуксусной кислоты, индолмолочной кислоты, кинуренина, мелатонина и снижение уровня серотонина [98]. Некоторые авторы предполагают смещение катаболизма триптофана в сторону образования нейротоксичных соединений кинуренинового пути на фоне прогрессирования заболевания печени.

В работах, посвященных изучению уровня аминокислот на фоне ЦП, были установлены существенные снижения концентрации L-аланина, L-валина, L-изолейцина, L-лейцина, L-серина и L-аспарагина. Вместе с этим, авторами было выявлено существенное превалирование уровня L-изоформ по сравнению с уровнем D-аминокислот [19, 97]. На мышинной модели на фоне индуцированного цирроза печени различной этиологии наблюдалось смещение метаболизма глюкозы и галактозы в пользу синтеза аскорбиновой кислоты [121].

Таким образом, и многие другие исследования в области метаболомики подчеркивают тонко настроенную взаимосвязь биохимических процессов, непрерывно протекающих в организме. Одни и те же вещества могут быть задействованы и в энергетическом обмене, и быть продуктами жизнедеятельности кишечной микробиоты, принимать участие в метаболизме молекул с важной физиологической функцией поддержания гомеостаза или, напротив, оказывать прямое повреждающее действие на клеточном уровне [41]. Такие нозологические формы, как АБП и НАЖБП, потенциально содержат в себе схожие нарушения,

включая активацию иммунной системы, развитие митохондриальной дисфункции и фиброгенез. Вместе с тем, клинические наблюдения, а также описанная в литературе роль этиологического и эпигенетического факторов подчеркивают различия данных патологических процессов, в том числе и на молекулярном уровне.

Понимание процессов прогрессирования заболеваний невозможно без совершенствования исследовательских подходов. Таким образом, исследование явных и скрытых метаболических путей открывает возможность для более глубокого понимания механизмов и патофизиологических аспектов развития и прогрессирования заболеваний печени, что и легло в основу поставленных цели и задач текущего исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено обсервационное поперечное исследование, одобренное Локальным Комитетом по этике ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) № 01-22 от 20.01.2022.

2.1. Дизайн исследования по изучению метаболомного профиля пациентов с алкогольной жировой болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени

За период времени с января 2022 года по март 2023 года в отделении гепатологии Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии имени В.Х. Василенко (директор Клиники – академик РАН, профессор, д. м. н. В. Т. Ивашкин, заведующая отделением – к. м. н. М. С. Жаркова) было обследовано 120 пациентов с предварительным диагнозом «неалкогольная жировая болезнь печени» и «алкогольная болезнь печени» на разных стадиях заболевания. Из них 84 пациента в возрасте от 18 до 80 лет были отобраны для исследования на основании соответствия критериям включения и несоответствия критериям исключения.

Включение пациентов в исследования проводилось после подписания информированного согласия. Общие критерии для включения пациентов в исследование:

1. Диагнозы НАЖБП или АБП, установленные на основании данных анамнеза, клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования;
2. Возраст пациентов от 18 до 80 лет;
3. Наличие информированного согласия пациента на участие в клиническом исследовании.

Критерии, не позволяющие включить пациентов в исследование: возраст менее 18 лет, отказ от участия в исследовании и/или в подписании формы информированного согласия, гепатоцеллюлярная карцинома и/или другие

онкологические заболевания, беременность или кормление грудью, инфицирование вирусами гепатита (А/В/С/Д/Е) и иммунодефицит (ВИЧ-инфекция, СПИД), аутоиммунные заболевания и холестатические заболевания печени.

К критериям исключения из исследования отнесены: отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании, диагностированная во время исследования гепатоцеллюлярная карцинома и/или другие онкологические заболевания, выявление факта инфицирования вирусами гепатита (А/В/С/Д/Е).

При поступлении в отделение гепатологии все пациенты прошли обследование в соответствии с клиническими рекомендациями, включая сбор жалоб и анамнеза, осмотр пациента, проведение лабораторных и инструментальных исследований. Диагноз АБП или НАЖБП был установлен в соответствии с «Клиническими рекомендациями Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени» [7] и «Клиническими рекомендациями Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российской ассоциации эндокринологов, Российской ассоциации геронтологов и гериатров и Национального общества профилактической кардиологии по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени» [8].

В ходе обследования у пациентов, не включенных в исследование (n=32), было установлено наличие новообразований в печени (n=5) или других онкологических процессов (n=7), выявлены маркеры аутоиммунного заболевания или холестатического заболевания печени (n=6), маркеры вирусных гепатитов или установлен факт проведения противовирусной терапии в анамнезе (n=9), установлены генетически детерминированные заболевания (n=1), 4 пациента отказались принять участие в исследовании. В зависимости от этиологического фактора повреждения печени пациенты были распределены в 2 группы: АБП (n=40) и НАЖБП (n=44). В зависимости от варианта повреждения печени были выделены следующие подгруппы: АБП: стеатоз (n=2), АБП: стеатогепатит (n=7),

цирроз печени в исходе АБП (n=31), НАЖБП: стеатоз печени (n=22), НАЖБП: стеатогепатит (n=14), цирроз печени в исходе НАЖБП (n=8) [23].

В условиях клиники пациентам был выполнен забор крови для последующего метаболомного анализа сыворотки крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС).

Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

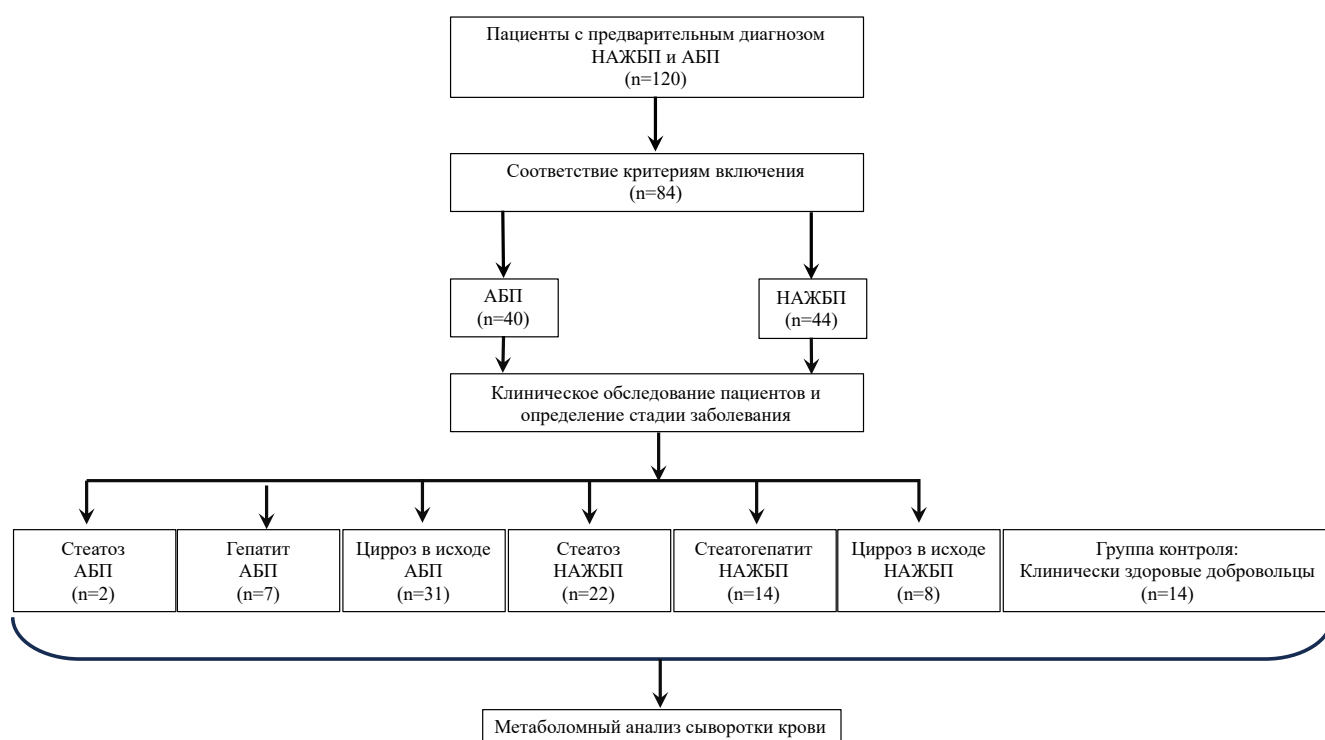


Рисунок 2 – Дизайн исследования метаболомного профиля пациентов с АБП и НАЖБП

2.1.1. Характеристика контрольной группы

Группу контроля составили 14 здоровых добровольцев, от 18 до 80 лет, не предъявляющие жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта, без сопутствующих заболеваний дыхательной, мочевыделительной, эндокринной и сердечно-сосудистой системы, онкологических заболеваний, обратившиеся в клинику для проведения профилактического осмотра (Таблица 1).

Таблица 1 – Основные клинико-лабораторные характеристики группы контроля

Возраст, года	40,50 [29,75; 44,75]
ИМТ, кг/м ²	22,31 [20,90; 23,10]
FIB-4	0,64 [0,56; 0,71]
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	307,50 [253,25; 369,50]
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,01 [5,08; 7,68]
Эритроциты, 10 ¹² /л.	4,54 [4,33; 4,79]
Ig A, г/л	2,53 [2,03; 3,18]
Ig M, г/л	1,38 [1,31; 1,52]
Ig G, г/л	11,52 [10,81; 13,03]
Билирубин общий, мкмоль/л	10,40 [9,57; 12,65]
Билирубин прямой, мкмоль/л	2,55 [2,22; 2,88]
АЛТ, ед/л	17,00 [11,00; 21,00]
АСТ, ед/л	20,00 [17,00; 23,00]
ГГТ, ед/л	14,50 [13,00; 33,25]
ЩФ, ед/л	75,00 [51,00; 104,69]
Альбумин, г/л	44,90 [43,47; 46,62]
Общий белок, г/л	72,05 [71,00; 75,38]
Глюкоза, мкмоль/л	4,75 [4,35; 5,48]
Железо, мкмоль/л	12,35 [10,07; 18,50]
Калий, ммоль/л	4,35 [4,15; 4,50]
ЛПВП, ммоль/л	1,33 [1,23; 1,47]
ЛПНП, ммоль/л	3,10 [2,88; 3,45]
ЛПОНП, ммоль/л	0,60 [0,39; 0,62]
Холестерин, ммоль/л	4,82 [4,22; 5,47]
Креатинин, мкмоль/л	81,50 [74,78; 89,25]
МНО	1,03 [0,99; 1,08]

2.2. Дизайн исследования по изучению метаболомного профиля подгрупп пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной жировой болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени

Для проведения исследования использованы клинико-лабораторные данные и результаты метаболомного анализа, полученные ранее (п. 2.1). Диагноз «цирроз печени» в исходе АБП или НАЖБП был установлен на основании анамнеза, клинической картины и лабораторно-инструментальных исследований в соответствии с «Клиническими рекомендациями Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению фиброза и цирроза печени и их осложнений» [27].

Было отобрано 39 пациентов с циррозом печени, из них в исходе АБП – 31 пациент и в исходе НАЖБП – 8. Все пациенты с циррозом были классифицированы в зависимости от степени тяжести заболевания по Child-Pugh: класс А составил 16 пациентов, класс В – 15 и класс С – 8. В группу сравнения (n=59) для данного исследования были включены все пациенты без установленного диагноза «цирроз печени» (n=45) и группа здоровых людей (n=14).

Дизайн исследования представлен на рисунке 3.

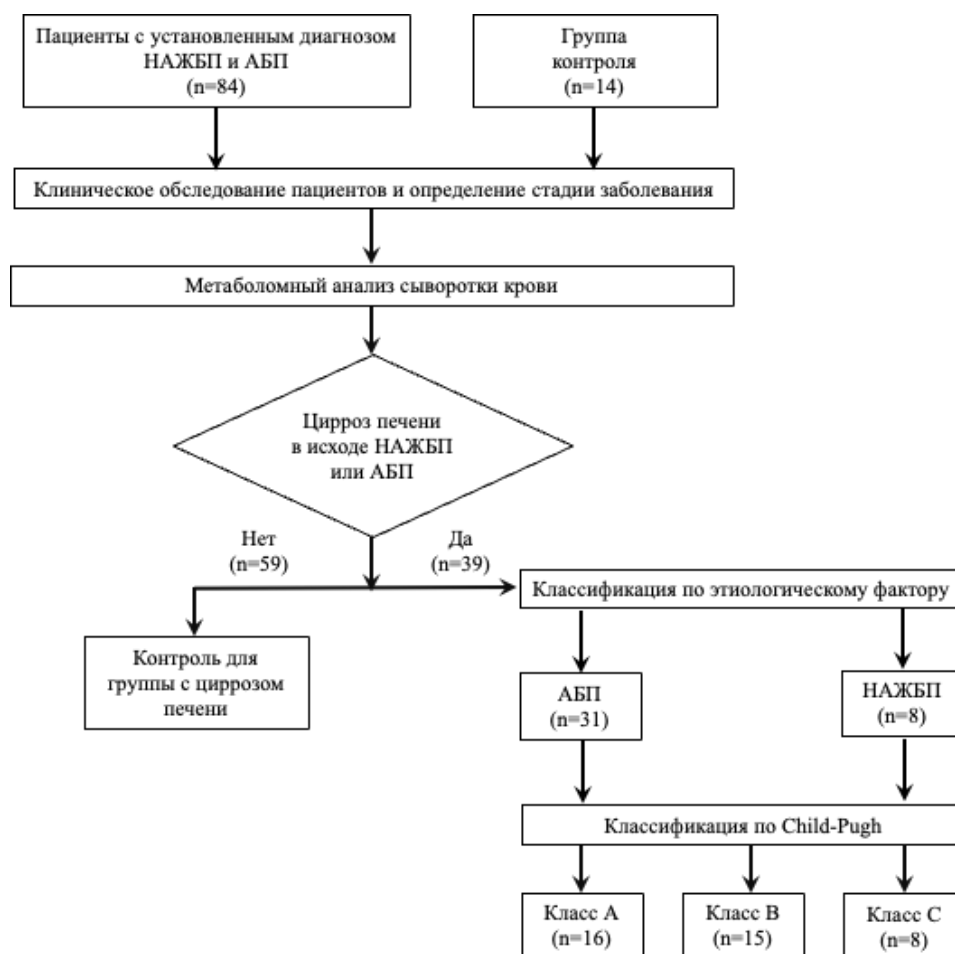


Рисунок 3 – Дизайн исследования метаболомного профиля пациентов с циррозом печени в исходе АБП и НАЖБП

2.3. Методы исследования

2.3.1. Клиническое обследование пациентов

Диагноз НАЖБП устанавливался на основании данных анамнеза, клинической картины и результатов лабораторных (клинический, биохимический анализ крови, коагулограмма) и инструментальных исследований (ультразвуковое исследование органов брюшной полости, эзофагогастродуоденоскопия, в отдельных случаях компьютерная томография органов брюшной полости), а также исключения других этиологических факторов повреждения печени (*diagnosis per exclusionem*). При выявлении употребления алкоголя в гепатотоксических дозировках в течение >6 мес (>30 г/день для мужчин и >20 г/день для женщин) устанавливался диагноз АБП. Всем пациентам выполнен скрининг на наличие маркеров вирусного гепатита (HBsAg, HBeAg, Anti-HBc-total, Anti-HBe, Anti-HBs, Anti-HCV-total, Anti-HAV-IgM, Anti-HAV-IgG), маркеров первичного билиарного холангита и аутоиммунного гепатита (AMA, ANA, SMA и anti-LKM1), а также гемохроматоза (уровень ферритина, насыщение трансферрина железом) и болезни Вильсона (уровень церулоплазмина, кольца Кайзера-Флейшера, суточное количество меди в моче, уровень свободной меди в плазме крови). Для оценки фиброза печени использованы критерии неинвазивного расчетного показателя (FIB-4) и в отдельных случаях эластометрия.

Дополнительно всем участникам исследования проводился метаболомный анализ сыворотки крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и tandemной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС).

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости выполнялось врачами отделения ультразвуковой диагностики УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующая отделением к.м.н. М.А. Татаркина) с использованием аппарата ACUSONS2000 фирмы «Siemens Medical Solutions» (США, 2017 г.) по стандартной методике [25].

Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) проводилась врачами отделения лечебно-диагностической эндоскопии УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующий отделением к.м.н. П.В. Павлов) с применением гастроскопа Pentax EG 29-i10 (Япония).

Компьютерная томография (КТ) органов брюшной полости, и забрюшинного пространства проводились врачами отделения лучевой диагностики УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (заведующий отделением М.В. Фельдшеров) с использованием мультиспирального компьютерного томографа Aquilion Prime (Toshiba) с введением йод-контрастного препарата (Йогексол 350 – 150 мл) [3].

Эластометрия проводилась на базе УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (врач-гастроэнтеролог, к.м.н. Ондос Ш.А.) с использованием аппарата iLivTouch FT 100, компания Wuxi Hisky (Китай). Значения CAP, используемые для определения наличия и степени стеатоза, были следующими: >S0 (стеатоз <10%) - 248 дБ/м, >S1 (стеатоз от 10% до <33% (легкий)) - 268 дБ/м и >S2 (стеатоз от 33% до <66% (умеренный)) - 280 дБ/м, тогда как показатель CAP >280 дБ/м свидетельствовал о S3 (стеатоз ≥66% (выраженный)). Жесткость печени выражали средним значением (в кПа) 10 измерений, выполненных на глубине от 25 до 65 мм. Пороговым значением для определения наличия фиброза была жесткость печени >7,6 кПа.

2.3.2. Метаболомный анализ

Исследование было выполнено лабораторией фармакокинетики и метаболомного анализа Института трансляционной медицины и биотехнологии (Сеченовский Университет) (заведующий лабораторией, к.фарм.н. Маркин П.А.) на базе центра биофармацевтического анализа и метаболомных исследований (руководитель центра, к.х.н. Апполонова С.В.)

Для исследования метаболомного профиля сыворотки крови пациентов использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС).

На первом этапе при поступлении пациента в стационар производился забор крови из плечевой вены в вакуумные пробирки 2 мл с активатором свертывания. Образцы крови центрифугировали в стандартных условиях при ускорении 3000 g в течение 10 мин. После осаждения супернатант переливали во вторичную полипропиленовую пробирку типа Эппендорф. Образцы хранили при температуре ниже -80°C до момента анализа.

На втором этапе были приготовлены растворы внутренних стандартов метаболитов. После размораживания к 10 мкл исследуемых образцов сыворотки, в полипропиленовой пробирке типа Эппендорф были добавлены 40 мкл смеси внутренних стандартов IS-mix. Образовавшуюся смесь упаривали досуха в центрифужном вакуумном испарителе при температуре 40°C . К сухому остатку была добавлена смесь для дериватизации (раствор фенилизотиоцианата в пиридине), далее раствор был перемешан на вортексе в течение 10 сек и оставлен при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем образцы были упарены досуха в центрифужном вакуумном испарителе при температуре 40°C . К сухому остатку был добавлен 100 мкл 5 мМ раствор ацетата аммония в метаноле. Образцы были перемешаны на шейкере в течение 30 мин. К образцам плазмы и лабораторным образцам плазмы были добавлены 100 мкл деионизированной воды, а к стандартным растворам (Cal1-6, QCs) 100 мкл раствора 0.1 PBS. Образовавшиеся растворы были перемешаны на вортексе в течение 10 сек и центрифугированы при 14 900 g и температуре 20°C в течение 10 мин. Супернатант объемом 150 мкл был перенесен в полипропиленовую микровиалку для последующего хромато-масс-спектрометрического анализа.

В ходе высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии определение соединений в пробе проводили по двум характеристикам: времени удерживания вещества и характеристичным масс-спектрометрическим переходам. Хроматографическое разделение веществ

проводили с помощью градиентного элюирования. Масс-спектрометрическое детектирование проводилось в режиме мониторинга множественных реакций (MRM).

После завершения анализа полученные данные были обработаны с использованием программного обеспечения MassHunter (В.08.00) с построением градуировочной кривой. Результат количественного определения проб выводился в виде общего файла Excel, содержащего номера проб и концентрации аналитов. В общей сложности в ходе метаболомного анализа было определено 96 метаболитов сыворотки крови пациентов (Таблица 2).

Таблица 2 – Список метаболитов сыворотки крови, количественное определение которых было выполнено в ходе ВЭЖХ-МС/МС

Метаболиты триптофана	Ацилкарнитины
3-ОН Антраниловая кислота	Карнитин (C0)
Антраниловая кислота	Ацетилкарнитин (C2)
5-Гидрокситриптофан	Пропионилкарнитин (C3)
5-Метокситриптами	Бутирилкарнитин (C4)
6-Гидроксимелатонин	Валерилкарнитин (C5)
5-Гидроксииндолуксусная кислота	Тиглилкарнитин (C5-1)
Индол-3-уксусная кислота	Глутарилкарнитин (C5-DC)
Индолил-3-масляная кислота	3-Гидроксиизовалерилкарнитин (C5-ОН)
Индол-3-карбоксальдегид	Капроилкарнитин (C6)
Индол-3-молочная кислота	Адипоилкарнитин (C6-DC)
Индол-3-пропионовая кислота	Октаноилкарнитин (C8)
Кинуреновая кислота	Октендиоилкарнитин (C8-1)
Кинуренин	Деканоилкарнитин (C10)
Мелатонин	Деценоилкарнитин (C10-1)
Хинолиновая кислота	Декадиеноилкарнитин (C10-2)
Серотонин	Лауроилкарнитин (C12)
Триптами	Додеценоилкарнитин (C12-1)
Триптофан	Миристоилкарнитин (C14)
Ксантуруеновая кислота	Тетрадеценоилкарнитин (C14-1)
Аминокислоты и их метаболиты	Тетрадекадиеноилкарнитин (C14-2)
Аденозин	3-Гидрокситетрадеканоилкарнитин (C14-ОН)
Аланин	Пальмитоилкарнитин (C16)
Аргинин	Пальмитолеилкарнитин (C16-1)
Аспарагин	3-Гидроксиальмитолеилкарнитин (C16-1-ОН)
Аспарагиновая кислота	3-Гидроксиальмитоилкарнитин (C16-ОН)
Асимметричный диметиларгинин	Стеароилкарнитин (C18)
Бетаин	Олеоилкарнитин (C18-1)
Карнозин	3-Гидроксиоктадеценоилкарнитин (C18-1-ОН)

Продолжение Таблицы 2

Аминокислоты и их метаболиты	Ацилкарнитины
Цитруллин	Линолеилкарнитин (C18-2)
Цитидин	3-Гидроксистеароилкарнитин (C18-OH)
Диметилглицин	Метаболиты катехоламинов
Глутаминовая кислота	Дигидроксифенилаланин (ДОФА)
Глутамин	Дофамин
Глицин	Эпинефрин
Гистидин	Метанефрин
Гомоаргинин	Норэпинефрин
Гидроксипролин	Норметанефрин
Лейцин	Фенилаланин
Лизин	Тирозин
Метионин сульфоксид	Другие метаболиты:
Метионин	Гамма-аминомасляная кислота
Метилгистидин	Ацетилхолин
Общий диметиларгинин	Холин
Пролин	Кортизол
Серин	Креатинин
Таурин	Гистамин
Треонин	Триметиламин-N-оксид (ТМАО)
Валин	Уридин
Витамины группы В	
Биотин	
Пантотеновая кислота	
Рибофлавин	

2.4. Методы статистического анализа

Статистическая обработка данных производилась с использованием прикладного программного обеспечения Excel 2019 («Microsoft», США) и JMP Pro 17 («SAS», США). Все анализы выполнялись на данных после процедуры импутации пропущенных значений. Для проверки распределения количественных показателей на нормальность применялся критерий Колмогорова-Смирнова с коррекцией Лиллиефорса. Учитывая выявленные отклонения от нормального распределения в большинстве исследуемых переменных, для дальнейшего анализа применялись непараметрические методы статистики. Количественные показатели описывались в виде медианы и межквартильного размаха «Me [Q25%; Q75%]».

Качественные данные представлялись в виде абсолютного и относительного значений – n (%).

Сравнения двух несвязанных групп по количественным переменным оценивались с помощью непараметрического критерия U-Манна-Уитни, трех и более групп – с помощью критерия Краскела-Уоллеса с последующими попарными сравнениями при выявлении значимых различий. Оценка значимости различий между группами по качественным показателям выполнялась с использованием критерия χ^2 -Пирсона при условии ожидаемых частот не менее 5 в каждой ячейке таблицы сопряженности.

Корреляционная связь между количественными показателями устанавливалась с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Теснота корреляционной связи оценивалась в соответствии со шкалой Чеддока.

Для выявления связи между определенными факторами и наличием признаков применялась модели бинарной логистической регрессии с определением отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ).

Уровень значимости при проверке статистических гипотез был зафиксирован на уровне $p < 0.05$. Для коррекции уровня ошибки первого рода при проведении множественных попарных сравнений применялась поправка Бонферрони с соответствующей корректировкой критического уровня значимости.

2.4.1. Обработка пропущенных значений

Предварительный анализ структуры данных в выборке из 98 пациентов показал, что доля пропущенных значений по каждому из исследуемых количественных показателей не превышала 15% (от 2,0% до 14,3% по различным переменным). В импутации участвовали 33 переменные, включающие показатели липидного профиля (ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, холестерин), биохимические маркеры (глюкоза, билирубин прямой и общий, креатинин, общий белок, альбумин, щелочная фосфатаза, АСТ, ГГТ, железо, калий), аминокислоты и нейротрансмиттеры (серотонин, метионин, метилгистидин, таурин, валин,

глутаминовая кислота, глутамин, норэпинефрин, тирозин), ацилкарнитины (C5-DC, C16-1), иммуноглобулины (IgA, IgG, IgM), гематологические показатели (эритроциты, тромбоциты), антропометрические данные (ИМТ) и расчетные индексы (FIB-4). Всего было импутировано 228 значений из 3234 общего количества значений переменных (7,1%).

Анализ паттернов пропущенных данных проводился с использованием визуального анализа и теста Little's MCAR, который, несмотря на ограниченную статистическую мощность при данном соотношении переменных к наблюдениям, не выявил явного систематического характера пропусков ($\chi^2 = 89,4$; $df = 97$; $p = 0,067$), что поддерживало рабочую гипотезу о случайном механизме их формирования.

Для обработки пропущенных значений применялся метод многомерной робастной импутации на основе главных компонент (Multivariate RPCA Imputation). Выбор данного метода был обусловлен наличием существенных отклонений от нормального распределения в большинстве переменных, присутствием потенциальных выбросов в биохимических показателях, характерных для клинических данных, а также необходимостью сохранения корреляционной структуры между метаболически связанными переменными. Учитывая ограничения, связанные с соотношением количества переменных к размеру выборки (3,4:1), что ниже оптимального эмпирического диапазона 5-10:1, метод RPCA был выбран как наиболее подходящий среди доступных альтернатив для работы с многомерными данными в условиях ненормальности распределений и наличия выбросов.

Предварительная оценка применимости метода включала проверку ключевых предпосылок: анализ главных компонент показал, что первые пять компонент объясняли 78% общей дисперсии данных, что указывало на приемлемую низкоранговую структуру матрицы. Корреляционный анализ выявил умеренные связи между переменными (медиана абсолютных значений коэффициентов корреляции $r = 0,31$), создающие основу для эффективной импутации. Идентификация потенциальных выбросов с использованием

робастного расстояния Махаланобиса выявила 8,2% наблюдений, превышающих критическое значение, что подтверждало целесообразность применения робастного подхода.

Алгоритм RPCA-импутации выполнялся с параметром регуляризации $\lambda = 1/\sqrt{\max(n,p)} = 0,098$, выбранным согласно рекомендациям для задач низкорангового восстановления матриц. Использовался итеративный алгоритм увеличенных множителей Лагранжа (ALM) с максимальным количеством итераций 50 и критерием сходимости, основанным на относительном изменении восстановленной матрицы менее 10^{-4} . Алгоритм достиг сходимости в среднем за 12 итераций для всех переменных.

Качество импутации оценивалось с использованием робастных статистических характеристик. Сравнение медиан и интерквартильных размахов исходных и импутированных значений не выявило существенных различий (медиана относительных различий составила 3,1%, интерквартильный размах 1,2-6,8%). Корреляционная структура данных оценивалась с помощью ранговых корреляций Спирмена, а средняя абсолютная разность коэффициентов до и после импутации составила 0,04 (диапазон 0,01-0,09), что свидетельствовало о сохранении взаимосвязей между переменными.

Анализ чувствительности включал сравнение результатов с методом множественной импутации по цепочкам уравнений (MICE) и анализом только полных наблюдений (complete case analysis, $n = 76$). Различия в медианных значениях между RPCA и MICE не превышали 4,2% для всех переменных, а основные статистические выводы оставались согласованными между всеми подходами. Полученные данные позволили заключить, что несмотря на ограничения, связанные с размером выборки, примененный метод RPCA-импутации обеспечил приемлемое качество восстановления данных для последующего применения непараметрических методов анализа, учитывающих специфику распределений, исследуемых биомаркеров.

2.4.2. Метод обогащения

Для системной интерпретации выявленных метаболических изменений применялся метод обогащения (Metabolite Set Enrichment Analysis, MSEA) с помощью модуля Enrichment analysis веб-платформы MetaboAnalyst 6.0.

2.4.3. Многофакторный анализ

Для выявления и интерпретации скрытой структуры в наборе исследуемых показателей был применён факторный анализ методом главных компонент (Principal Component Analysis) с ортогональным варимакс-вращением. Учитывая расширенный набор переменных относительно размера выборки, предварительно проводилась оценка пригодности данных для факторного анализа с помощью критерия Кайзера-Мейера-Олкина ($KMO \geq 0,60$) и теста Бартлетта на сферичность ($p < 0,05$), подтверждающих наличие достаточно сильных взаимосвязей в корреляционной матрице.

Перед анализом все переменные подвергались стандартизации для обеспечения равного вклада показателей с различными единицами измерения и масштабами значений. Первым этапом из общей совокупности признаков выделялись главные компоненты, упорядоченные по убыванию объясняемой дисперсии. Оптимальное количество факторов определялось на основе совокупности критериев: визуального анализа графика собственных значений (scree plot), критерия Кайзера (собственные значения $> 1,0$), и критерия кумулятивной объясненной дисперсии (не менее 60% для многомерных биологических данных).

После варимакс-вращения, направленного на получение более интерпретируемой факторной структуры с четким разделением переменных по факторам, анализировались факторные нагрузки с использованием порогового значения $|0,533|$ для включения переменной в интерпретацию фактора. Качество

факторного решения дополнительно оценивалось через анализ остаточных корреляций и проверку воспроизводимости корреляционной матрицы.

Полученная факторная структура интерпретировалась с учетом биологического смысла сгруппированных переменных для установления латентных метаболических процессов или функциональных путей, отражающих подлежащие физиологические механизмы, связанные с исследуемым состоянием.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Целевой метаболомный анализ сыворотки крови групп пациентов с алкогольной болезнью печени, неалкогольной жировой болезнью печени и группы контроля¹

В исследование по изучению метаболома включено 84 пациентов: 40 пациентов с установленным диагнозом «алкогольная болезнь печени» на стадии стеатоза (n=2), стеатогепатита (n=7) и цирроза печени (n=31), 44 – с диагнозом «неалкогольная жировая болезнь печени» на стадии стеатоза (n=22), стеатогепатита (n=14), цирроза печени (n=8) и 14 здоровых добровольцев, которые составили группу контроля (Таблица 3).

Таблица 3 – Характеристика клинико-лабораторных данных включенных в исследование пациентов с установленным диагнозом алкогольная болезнь печени, неалкогольная жировая болезнь печени и группы контроля

Переменная		АБП (n=40)	НАЖБП (n=44)	Группа контроля (n=14)	Значение p
Демографические данные					
Пол, n (%)	Мужчины	22 (55,00%)	16 (36,36%)	3 (21,43%)	0,055
	Женщины	18 (45,00%)	28 (63,64%)	11 (78,57%)	
Возраст, годы		51,50 [41,75; 60,25]	57,00 [48,00; 63,50]	40,50 [29,75; 44,75]	0,0001
ИМТ, кг/м ²		26,28 [22,20; 32,20]	30,60 [26,77; 33,60]	22,31 [20,90; 23,10]	< 0,0001
Лабораторные показатели					
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л		163,50 [96,25; 265,00]	237,00 [192,75; 265,00]	307,50 [253,25; 369,50]	0,0001

¹ Работа выполнена в соавторстве, по материалам главы опубликована оригинальная статья с соавторами: Решетова М.С., Маркин П.А., Апполонова С.А., Шестакова К.М., Байдалин О.А., Волошин И.А., Юнусов И.Р., Зольникова О.Ю., Масленников Р.В., Жаркова М.С., Ивашкин В.Т. Определение метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени методом главных компонент. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2025. – Т. 35. – № 3. – С. 54–70. – DOI: 10.22416/1382-4376-2025-35-3-54-70.

Продолжение Таблицы 3

Переменная	АБП (n=40)	НАЖБП (n=44)	Группа контроля (n=14)	Значение р
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	5,31 [4,21; 6,93]	6,05 [4,94; 7,42]	6,01 [5,08; 7,68]	0,258
Эритроциты, × 10 ¹² /л	4,01 [3,39; 4,65]	4,68 [4,46; 5,03]	4,54 [4,33; 4,79]	< 0,0001
Ig A, г/л	5,51 [3,42; 7,51]	2,66 [2,21; 3,33]	2,53 [2,03; 3,18]	< 0,0001
Ig M, г/л	1,76 [1,26; 2,96]	1,01 [0,75; 1,36]	1,38 [1,31; 1,52]	< 0,0001
Ig G, г/л	15,55 [13,26; 18,98]	11,13 [9,13; 13,23]	11,52 [10,81; 13,03]	< 0,0001
Билирубин общий, мкмоль/л	29,45 [17,62; 47,53]	12,55 [10,10; 18,92]	10,40 [9,57; 12,65]	< 0,0001
Билирубин прямой, мкмоль/л	9,70 [4,40; 20,06]	2,40 [1,70; 3,30]	2,55 [2,22; 2,88]	< 0,0001
АЛТ, ед/л	26,00 [20,25; 52,25]	34,00 [28,00; 51,75]	17,00 [11,00; 21,00]	0,0004
АСТ, ед/л	55,00 [31,00; 77,50]	26,50 [23,00; 42,00]	20,00 [17,00; 23,00]	< 0,0001
ГГТ, ед/л	97,50 [50,50; 312,00]	35,50 [20,75; 60,25]	14,50 [13,00; 33,25]	< 0,0001
ЩФ, ед/л	137,00 [97,00; 263,25]	102,50 [72,75; 169,75]	75,00 [51,00; 104,69]	0,0008
Альбумин, г/л	37,35 [34,00; 43,48]	44,95 [42,92; 46,00]	44,90 [43,47; 46,62]	< 0,0001
Общий белок, г/л	72,00 [69,00; 75,25]	72,00 [69,30; 74,25]	72,05 [71,00; 75,38]	0,953
Глюкоза, ммоль/л	5,34 [5,00; 6,18]	5,56 [4,90; 6,90]	4,75 [4,35; 5,48]	0,016
Железо, мкмоль/л	19,00 [15,55; 24,16]	17,35 [13,75; 19,85]	12,35 [10,07; 18,50]	0,050
ЛПВП, ммоль/л	1,06 [0,90; 1,31]	1,12 [0,91; 1,33]	1,33 [1,23; 1,47]	0,016
ЛПНП, ммоль/л	3,19 [2,65; 4,06]	3,54 [2,93; 4,34]	3,10 [2,88; 3,45]	0,086
ЛПОНП, ммоль/л	0,57 [0,44; 0,67]	0,78 [0,66; 1,16]	0,60 [0,39; 0,62]	< 0,0001
Холестерин, ммоль/л	4,69 [3,88; 5,77]	5,44 [4,66; 6,23]	4,82 [4,22; 5,47]	0,049
Калий, ммоль/л	4,40 [4,20; 4,60]	4,60 [4,30; 4,90]	4,35 [4,15; 4,50]	0,049
Креатинин, мкмоль/л	76,00 [65,00; 93,75]	84,50 [76,00; 92,48]	81,50 [74,78; 89,25]	0,194
МНО	1,27 [1,09; 1,55]	1,03 [0,96; 1,10]	1,03 [0,99; 1,08]	< 0,0001
Сопутствующие заболевания				
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	5 (12,50%)	17 (39,53%)	(00,00%)	0,0012
Гипертоническая болезнь, n (%)	11 (27,50%)	29 (65,91%)	(00,00%)	< 0,0001

Продолжение Таблицы 3

Вариант повреждения печени				
Стеатоз печени, n (%)	2 (5,00%)	22 (50,00%)	(00,00%)	< 0,0001
Стеатогепатит, n (%)	7 (17,50%)	14 (31,82%)	(00,00%)	< 0,0001
Цирроз печени, n (%)	31 (77,50%)	8 (18,18%)	(00,00%)	< 0,0001

Все пациенты были сопоставимы по полу ($p > 0,05$), средний возраст группы контроля был несколько меньше ($p = 0,0001$), однако между группами пациентов с АБП и НАЖБП статистически значимых различий выявлено не было ($p = 0,30$). При НАЖБП наблюдалась значимое повышение ИМТ ($p < 0,0001$).

В общем анализе крови были выявлены статистически значимые различия. Тромбоцитопения наблюдалась у пациентов с АБП в сравнении с группой здоровых добровольцев ($p = 0,0002$), и в отличие от пациентов с НАЖБП – эритропения ($p < 0,0001$). Также группу пациентов с АБП отличала от НАЖБП и группы контроля выраженная коагулопатия, повышение индекса международного нормализованного отношения (МНО) ($p < 0,0001$; $p = 0,015$ соответственно).

В биохимическом анализе крови у пациентов с АБП отмечены выраженная гипербилирубинемия за счет общей ($p < 0,0001$) и прямой фракции ($p = 0,003$) и повышение маркеров холестаза (ГГТ ($p < 0,0001$) и ЩФ ($p = 0,001$)) в сравнении с группой контроля.

При анализе липидограммы при НАЖБП наблюдалось значимое повышение ЛПОНП в сравнении с АБП ($p < 0,0001$) и группой контроля ($p = 0,0024$). При анализе других фракций липидов статистически значимых различий в группах пациентов выявлено не было.

Группы пациентов статистически значимо различались по уровню фракций иммуноглобулинов. IgA и IgG были повышены у пациентов с АБП в сравнении с НАЖБП ($p = 0,0004$) и с группой контроля ($p = 0,015$). В сравнении с АБП было отмечено снижение концентрации IgM на фоне НАЖБП ($p < 0,0001$).

Всем пациентам был проведен одномоментный целевой метаболомный анализ сыворотки крови с определением уровня 96 различных метаболитов. Все молекулы были условно поделены на группы в зависимости от принадлежности к различным путям метаболизма. Основные группы молекул, вошедшие в исследование, представлены триптофаном и его метаболитами, ацикарнитинами, метаболитами обмена катехоламинов, витаминами группы В, общим набором аминокислот и их производных.

В таблице 4 представлены все проанализированные в ходе исследования метаболиты с указанием медианы и межквартильного размаха их абсолютных концентраций в рассматриваемых группах пациентов (АБП, НАЖБП и группа контроля).

Таблица 4 – Концентрация метаболитов сыворотки крови пациентов с алкогольной болезнью печени, неалкогольной жировой болезнью печени и группы контроля на основании целевого метаболомного анализа

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Уровень метаболитов у пациентов с АБП Me [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов с НАЖБП Me [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов группы контроля Me [LQ; UQ]
Метаболиты триптофана			
3-ОН Антраниловая кислота	0,04 [0,02; 0,07]	0,06 [0,04; 0,12]	0,03 [0,02; 0,03]
Антраниловая кислота	0,10 [0,05; 0,25]	0,11 [0,06; 0,46]	0,11 [0,07; 0,19]
5-Гидрокситриптофан	3,33 [2,14; 4,18]	3,87 [3,06; 5,07]	3,25 [2,96; 3,68]
5-Метокситриптами	0,64 [0,52; 0,75]	0,82 [0,68; 0,91]	0,80 [0,64; 0,92]
6-Гидроксимелатонин	0,15 [0,11; 0,20]	0,15 [0,09; 0,24]	0,17 [0,11; 0,23]
5-Гидроксииндолуксусная кислота	0,14 [0,11; 0,23]	0,17 [0,13; 0,23]	0,21 [0,12; 0,26]
Индол-3-уксусная кислота	1,33 [0,84; 1,72]	1,40 [0,97; 2,35]	1,53 [1,18; 1,98]
Индолил-3-масляная кислота	0,03 [0,01; 0,06]	0,02 [0,01; 0,05]	0,03 [0,01; 0,06]
Индол-3-карбоксальдегид	0,54 [0,43; 0,68]	0,65 [0,52; 0,76]	0,62 [0,48; 0,75]
Индол-3-молочная кислота	0,43 [0,27; 0,69]	0,58 [0,40; 0,76]	0,46 [0,31; 0,54]
Индол-3-пропионовая кислота	0,46 [0,16; 0,94]	0,59 [0,37; 0,92]	0,57 [0,36; 1,00]
Кинуреновая кислота	0,32 [0,27; 0,36]	0,32 [0,29; 0,36]	0,32 [0,27; 0,37]
Кинуренин	1,94 [1,44; 2,49]	1,70 [1,31; 2,11]	1,40 [1,10; 1,60]
Мелатонин	0,003 [0,002; 0,005]	0,004 [0,002; 0,006]	0,002 [0,001; 0,003]
Хинолиновая кислота	1,80 [1,48; 2,55]	1,95 [1,50; 2,43]	1,72 [1,38; 1,91]
Серотонин	0,45 [0,24; 0,89]	1,08 [0,79; 1,62]	1,80 [1,16; 2,25]

Продолжение Таблицы 4

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Уровень метаболитов у пациентов с АБП Ме [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов с НАЖБП Ме [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов группы контроля Ме [LQ; UQ]
Триптамин	0,004 [0,003; 0,006]	0,004 [0,003; 0,007]	0,003 [0,0005; 0,004]
Триптофан	29,80 [21,96; 35,75]	29,97 [23,91; 35,70]	27,40 [25,86; 29,70]
Ксантуреновая кислота	0,02 [0,01; 0,03]	0,03 [0,02; 0,03]	0,02 [0,02; 0,03]
Аминокислоты и их метаболиты			
Аденозин	0,04 [0,03; 0,05]	0,04 [0,03; 0,05]	0,04 [0,03; 0,05]
Аланин	248,27 [217,40; 303,35]	318,15 [268,11; 380,83]	263,37 [232,97; 322,62]
Аргинин	120,85 [96,41; 143,16]	127,41 [111,91; 141,77]	123,58 [97,43; 152,12]
Аспарагин	269,92 [199,42; 316,49]	224,93 [197,18; 284,49]	216,98 [213,42; 233,70]
Аспарагиновая кислота	74,96 [53,15; 88,34]	72,67 [54,85; 105,69]	53,71 [49,38; 67,41]
Асимметричный диметиларгинин	0,37 [0,30; 0,45]	0,31 [0,25; 0,38]	0,25 [0,21; 0,29]
Бетаин	29,85 [12,17; 56,73]	13,19 [8,80; 24,90]	14,02 [9,79; 20,86]
Карнозин	0,80 [0,50; 1,35]	1,76 [1,17; 2,55]	0,95 [0,45; 1,34]
Цитруллин	34,75 [26,67; 45,08]	32,67 [26,67; 38,31]	32,55 [29,72; 35,98]
Цитидин	0,005 [0,003; 0,006]	0,004 [0,002; 0,006]	0,003 [0,001; 0,004]
Диметилглицин	0,57 [0,36; 0,79]	0,55 [0,45; 0,75]	0,42 [0,35; 0,50]
Глутаминовая кислота	685,85 [349,17; 1 065,27]	393,17 [270,97; 521,98]	224,54 [176,25; 322,71]
Глутамин	107,98 [36,06; 170,35]	162,05 [119,74; 190,72]	165,18 [143,81; 199,83]
Глицин	206,20 [186,70; 232,02]	208,05 [181,04; 258,56]	198,03 [166,16; 237,03]
Гистидин	110,06 [97,93; 125,99]	114,97 [103,11; 131,13]	120,18 [109,96; 134,70]
Гомоаргинин	2,76 [2,15; 3,55]	2,57 [2,03; 3,30]	2,65 [2,07; 3,06]
Гидроксипролин	12,54 [8,65; 18,12]	7,72 [6,27; 11,31]	5,92 [5,11; 6,97]
Лейцин	105,38 [86,08; 132,16]	144,58 [114,48; 168,15]	124,43 [112,18; 135,33]
Лизин	245,61 [231,26; 286,77]	280,24 [258,37; 303,06]	257,54 [247,38; 276,44]
Метионин сульфоксид	4,36 [2,38; 6,73]	3,88 [2,62; 6,29]	3,75 [2,45; 7,86]
Метионин	28,50 [19,84; 41,72]	21,12 [16,68; 26,14]	24,60 [18,26; 27,02]
Метилгистидин	4,81 [2,69; 9,34]	6,88 [4,07; 11,62]	8,59 [4,75; 12,45]
Общий диметиларгинин	0,66 [0,61; 0,93]	0,71 [0,58; 0,79]	0,59 [0,54; 0,73]
Пролин	195,32 [174,50; 237,12]	198,96 [159,77; 237,67]	149,99 [128,64; 179,64]
Серин	195,27 [170,07; 228,81]	199,23 [175,14; 224,48]	193,88 [164,31; 228,30]

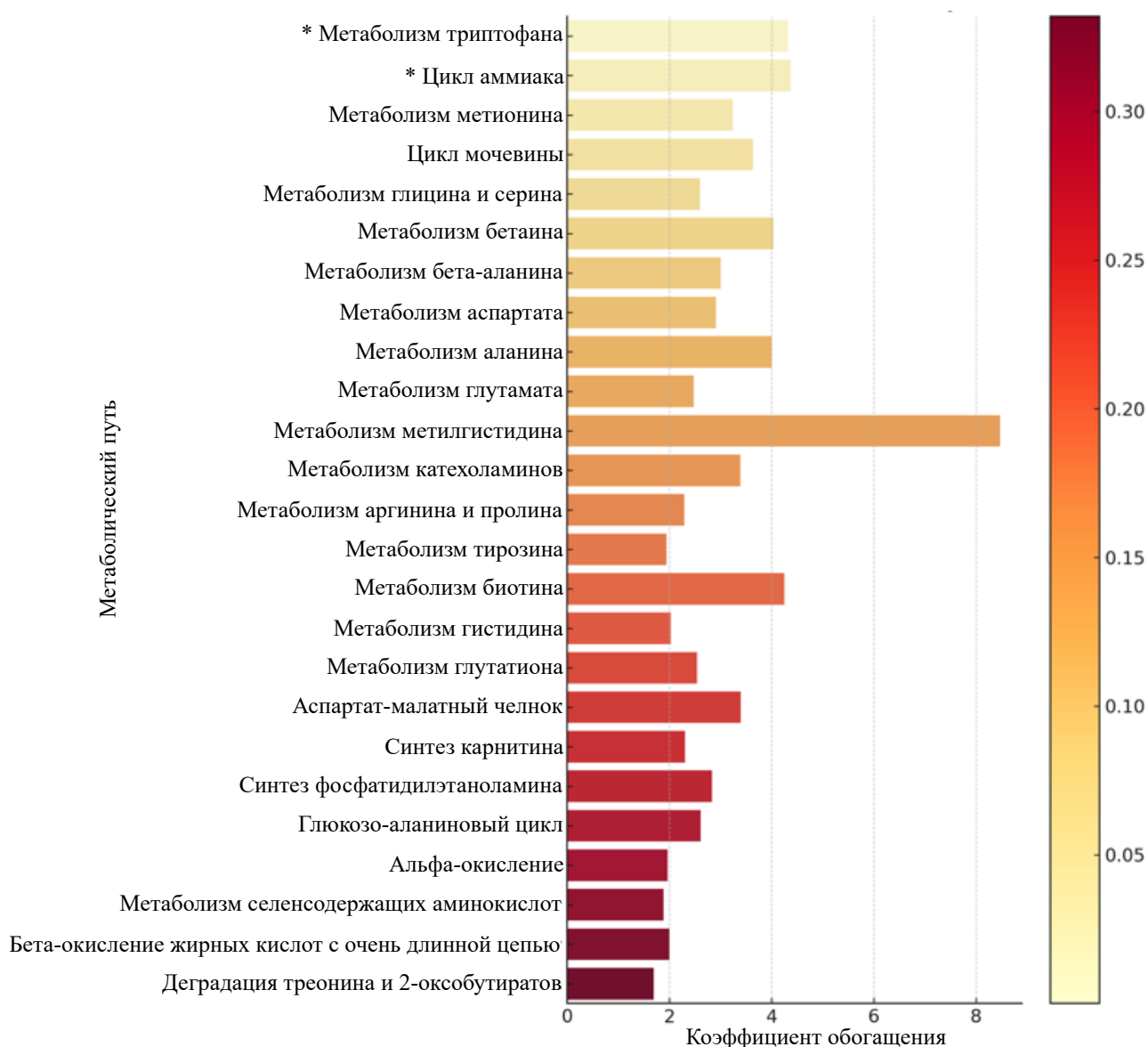
Продолжение Таблицы 4

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Уровень метаболитов у пациентов с АБП Ме [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов с НАЖБП Ме [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов группы контроля Ме [LQ; UQ]
Таурин	45,76 [36,08; 97,74]	80,40 [58,98; 109,87]	66,92 [42,63; 113,56]
Треонин	86,36 [75,48; 110,97]	91,97 [82,07; 105,25]	101,61 [85,61; 118,59]
Валин	149,93 [116,18; 194,36]	206,78 [174,22; 257,78]	190,18 [176,36; 218,52]
Витамины группы В			
Биотин	0,07 [0,05; 0,12]	0,07 [0,05; 0,14]	0,11 [0,07; 0,15]
Пантотеновая кислота	0,15 [0,11; 0,19]	0,18 [0,13; 0,21]	0,12 [0,10; 0,15]
Рибофлавин	0,06 [0,04; 0,09]	0,08 [0,06; 0,10]	0,09 [0,08; 0,11]
Ацилкарнитины			
Карнитин (C0)	26,16 [18,75; 32,66]	27,06 [21,65; 32,58]	23,17 [19,50; 26,02]
Ацетилкарнитин (C2)	8,12 [5,99; 14,33]	8,00 [5,83; 10,15]	6,85 [4,55; 8,43]
Пропионилкарнитин (C3)	0,27 [0,17; 0,47]	0,37 [0,25; 0,51]	0,31 [0,20; 0,37]
Бутирилкарнитин (C4)	0,09 [0,06; 0,12]	0,11 [0,07; 0,16]	0,12 [0,08; 0,14]
Валерилкарнитин (C5)	0,03 [0,02; 0,04]	0,04 [0,02; 0,05]	0,03 [0,02; 0,04]
Тиглилкарнитин (C5-1)	0,0037 [0,0026; 0,0054]	0,0047 [0,0036; 0,0064]	0,002 [0,003; 0,005]
Глутарилкарнитин (C5-DC)	0,0002 [0,0001; 0,0005]	0,0001 [0,0001; 0,0001]	0,00 [0,00; 0,00]
3-Гидрокси- изовалерилкарнитин (C5-OH)	0,0048 [0,0041; 0,0064]	0,0053 [0,0041; 0,0062]	0,005 [0,004; 0,005]
Капроилкарнитин (C6)	0,04 [0,03; 0,05]	0,03 [0,03; 0,05]	0,04 [0,02; 0,05]
Адипоилкарнитин (C6-DC)	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,01]
Октаноилкарнитин (C8)	0,02 [0,02; 0,08]	0,03 [0,02; 0,08]	0,03 [0,01; 0,04]
Октендиоилкарнитин (C8-1)	0,03 [0,02; 0,06]	0,04 [0,03; 0,06]	0,04 [0,03; 0,04]
Деканоилкарнитин (C10)	0,02 [0,02; 0,03]	0,03 [0,02; 0,04]	0,03 [0,02; 0,05]
Деценоилкарнитин (C10-1)	0,02 [0,01; 0,03]	0,03 [0,02; 0,03]	0,02 [0,02; 0,03]
Декадиеноилкарнитин (C10-2)	0,0011 [0,0008; 0,0016]	0,0018 [0,0013; 0,0023]	0,0006 [0,0003; 0,0014]
Лауроилкарнитин (C12)	0,04 [0,03; 0,05]	0,04 [0,03; 0,05]	0,05 [0,03; 0,06]
Додеценоилкарнитин (C12-1)	0,03 [0,02; 0,04]	0,03 [0,02; 0,04]	0,02 [0,02; 0,03]
Миристоилкарнитин (C14)	0,03 [0,02; 0,04]	0,03 [0,02; 0,03]	0,03 [0,02; 0,03]
Тетрадеценоилкарнитин (C14-1)	0,12 [0,08; 0,15]	0,10 [0,07; 0,14]	0,10 [0,07; 0,11]
Тетрадекадиеноилкарнитин (C14-2)	0,05 [0,03; 0,08]	0,05 [0,03; 0,07]	0,05 [0,04; 0,07]
3-Гидрокси- тетрадеканоилкарнитин (C14-OH)	0,0046 [0,0032; 0,0068]	0,0042 [0,0029; 0,0068]	0,002 [0,001; 0,003]
Пальмитоилкарнитин (C16)	0,09 [0,08; 0,13]	0,08 [0,07; 0,11]	0,07 [0,06; 0,08]

Продолжение Таблицы 4

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Уровень метаболитов у пациентов с АБП Ме [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов с НАЖБП Ме [LQ; UQ]	Уровень метаболитов у пациентов группы контроля Ме [LQ; UQ]
Пальмитолеилкарнитин (C16-1)	0,02 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,01]
3-Гидрокси- пальмитолеилкарнитин (C16-1-OH)	0,09 [0,08; 0,10]	0,09 [0,08; 0,10]	0,09 [0,08; 0,09]
3-Гидрокси- пальмитоилкарнитин (C16-OH)	0,021 [0,017; 0,027]	0,024 [0,02; 0,029]	0,017 [0,015; 0,02]
Стеароилкарнитин (C18)	0,007 [0,005; 0,01]	0,01 [0,007; 0,01]	0,005 [0,004; 0,006]
Олеоилкарнитин (C18-1)	0,08 [0,06; 0,11]	0,06 [0,05; 0,08]	0,04 [0,04; 0,05]
3-Гидрокси- октадецеаноилкарнитин (C18-1-OH)	0,003 [0,002; 0,003]	0,003 [0,002; 0,004]	0,002 [0,002; 0,003]
Линолеилкарнитин (C18-2)	0,05 [0,04; 0,08]	0,05 [0,04; 0,06]	0,03 [0,02; 0,05]
3-Гидрокси- стеароилкарнитин (C18-OH)	0,003 [0,002; 0,004]	0,003 [0,003; 0,004]	0,002 [0,001; 0,003]
Метаболиты катехоламинов			
Дигидроксифенилаланин (ДОФА)	33,60 [23,64; 54,68]	43,13 [31,07; 61,98]	27,88 [21,37; 54,86]
Дофамин	0,25 [0,18; 0,41]	0,29 [0,22; 0,37]	0,26 [0,19; 0,29]
Эпинефрин	1,07 [0,81; 1,45]	0,86 [0,64; 1,02]	0,79 [0,69; 0,92]
Метанефрин	0,011 [0,005; 0,017]	0,009 [0,004; 0,016]	0,002 [0,001; 0,004]
Норэпинефрин	0,67 [0,47; 1,34]	1,28 [0,95; 1,77]	1,24 [1,16; 1,70]
Норметанефрин	0,16 [0,07; 0,36]	0,18 [0,04; 0,41]	0,29 [0,21; 0,49]
Фенилаланин	80,78 [64,59; 98,50]	72,60 [62,62; 85,36]	59,25 [56,29; 63,59]
Тирозин	96,38 [78,73; 137,49]	78,81 [61,61; 90,17]	61,32 [53,57; 70,30]
Другие метаболиты:			
Гамма-аминомасляная кислота	0,29 [0,15; 0,44]	0,28 [0,16; 0,44]	0,27 [0,21; 0,32]
Ацетилхолин	37,15 [28,78; 46,42]	35,24 [24,23; 47,11]	52,21 [45,51; 58,81]
Холин	28,01 [21,64; 33,46]	31,28 [24,05; 33,97]	24,00 [21,21; 31,37]
Кортизол	5,12 [3,16; 7,65]	4,96 [3,97; 7,52]	5,32 [4,53; 6,56]
Креатинин	13,25 [9,72; 19,83]	14,94 [12,77; 19,64]	16,91 [13,85; 20,44]
Гистамин	0,006 [0,004; 0,008]	0,006 [0,004; 0,008]	0,006 [0,004; 0,008]
Триметиламин-N-оксид	2,88 [1,03; 6,14]	2,91 [1,89; 8,03]	1,52 [1,06; 3,72]
Уридин	3,78 [2,78; 4,50]	5,23 [3,47; 6,64]	4,01 [3,42; 4,75]

Для выявления ключевых метаболических процессов, исследованных в ходе настоящей работы, был проведён анализ обогащения метаболических путей. На основе аннотированных в базах данных метаболитов были определены наиболее релевантные биохимические пути ($n=25$) (Рисунок 4). Исходя из результатов анализа, исследованные концентрации метаболитов в большей степени отражают изменения в метаболизме триптофана и цикле аммиака (уровень статистической значимости после поправки на множественные сравнения $q < 0,05$), в меньшей степени мы можем оценивать пути метаболизма метионина, цикл мочевины, метаболические пути глицина, серина, бетаина и бета-аланина ($0,05 < q < 0,1$). В то же время, наиболее выраженное обогащение установлено для метаболизма аминокислот. Так, наиболее существенные эффекты были выявлены в метаболизме метилгистидина, ответственного за работу сократительных белков, а также в метаболизме глутамата, аланина и аспартата, что отражает различие в трансаминировании и переносе восстановительных эквивалентов между цитозолем и митохондриями. В отношении метаболизма липидов выявлено значимое обогащение синтеза карнитина и β -окисления, что свидетельствует об усилении митохондриального окислительного метаболизма и перераспределении топливных субстратов. Одновременно выявленные значимые различия в рециркуляции аммиака и цикле мочевины говорят об усилении утилизации азота печенью в условиях повышенного катаболизма аминокислот.



Примечание: * – $FDR < 0,05$; цветовая шкала отражает статистическую значимость (чем темнее цвет, тем ниже p -значение); длина столбца – коэффициент обогащения

Рисунок 4 – Покрытие метаболических путей в рамках проведенного исследования

Уровень определенных метаболитов статистически значимо различал группы пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени, а также были выявлены различия в сравнении с группой здоровых добровольцев (Таблица 5).

Таблица 5 – Статистически значимые различия в уровнях метаболитов сыворотки крови пациентов с алкогольной болезнью печени, неалкогольной жировой болезнью печени и группы контроля

Метаболиты	АБП/ НАЖБП	АБП/ Группа контроля	НАЖБП/ Группа контроля	Значение p
Метаболиты триптофана				
3-ОН Антраниловая кислота	-	-	0,002	0,001
5-Гидрокситриптофан	-	-	-	0,027
5-Метокситриптами	0,001	-	-	< 0,001
Кинуренин	-	0,014	-	0,014
Серотонин	0,002	< 0,0001	-	< 0,0001
Аминокислоты и их метаболиты				
Аланин	0,001	-	-	< 0,001
Асимметричный диметиларгинин	-	0,0013	-	0,001
Бетаин	-	-	-	0,012
Карнозин	< 0,0001	-	-	< 0,0001
Диметилглицин	-	-	-	0,042
Глутаминовая кислота	-	< 0,0001	-	< 0,0001
Глутамин	0,010	-	-	0,003
Гидроксипролин	0,005	< 0,0001	-	< 0,0001
Лейцин	0,0003	-	-	< 0,001
Лизин	0,003	-	-	0,002
Метионин	0,015	-	-	0,014
Пролин	-	0,011	0,010	0,005
Таурин	0,012	-	-	0,011
Уридин	0,006	-	-	0,006
Валин	< 0,0001	-	-	< 0,0001
Витамины группы В				
Пантотеновая кислота	-	-	0,014	0,009
Ацилкарнитины				
Глутарилкарнитин (C5-DC)	-	-	-	0,020
Деценоилкарнитин (C10-1)	-	-	-	0,043
Декадиеноилкарнитин (C10-2)	0,001	-	-	< 0,001
3-Гидрокси-тетрадеcanoилкарнитин (C14-ОН)	-	-	-	0,015
Пальмитоилкарнитин (C16)	-	0,001	-	0,001
Пальмитолеилкарнитин (C16-1)	0,009	< 0,0001	-	< 0,0001
3-Гидрокси-пальмитоилкарнитин (C16-ОН)	-	-	-	0,044
Стеароилкарнитин (C18)	-	-	-	0,022
Олеоилкарнитин (C18-1)	-	0,0003	-	0,0002
Линолеилкарнитин (C18-2)	-	0,015	-	0,014

Продолжение Таблицы 5

Метаболиты	АБП/ НАЖБП	АБП/ Группа контроля	НАЖБП/ Группа контроля	Значение p
Метаболиты катехоламинов				
Эпинефрин	-	-	-	0,007
Метанефрин	-	0,005	-	0,004
Норэпинефрин	0,001	0,010	-	0,0002
Фенилаланин	-	0,002	0,012	0,002
Тирозин	0,002	< 0,0001	-	< 0,0001
Другие метаболиты:				
Ацетилхолин	-	0,012	0,008	0,005
Уридин	0,006	-	-	0,006

Различия уровня метаболитов между алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени

Было установлено статистически значимое снижение уровня серотонина ($p = 0,002$) и его метаболита, 5-метокситриптамина ($p = 0,001$), у пациентов с АБП.

Уровни аминокислот существенно различались между двумя нозологическими формами. Было установлено, что у пациентов с АБП наблюдалось снижение аланина ($p = 0,001$) и глутамина ($p = 0,010$), повышение уровня метионина ($p = 0,015$). На уровне незаменимых аминокислот отмечено снижение трех метаболитов – лейцина ($p = 0,0003$), лизина ($p = 0,003$) и валина ($p < 0,0001$). Уровень карнозина ($p < 0,0001$) и туарина ($p = 0,012$) был выше в группе пациентов с НАЖБП, а гидроксипролин ($p = 0,005$) статистически значимо был повышен на фоне АБП.

Выявлены статистически значимые различия в уровнях ацилкарнитинов. Так, на фоне АБП был снижен уровень декадиеноилкарнитина ($p = 0,001$) и повышен уровень пальмитолеилкарнитина ($p = 0,009$).

У пациентов с АБП на фоне более высокого уровня аминокислоты тирозина ($p = 0,002$), предшественника катехоламинов, наблюдался сниженный уровень норэпинефрина ($p = 0,001$).

У пациентов с НАЖБП статистически значимо был повышен уровень нуклеозида уридина ($p = 0,006$).

Различия уровня метаболитов между группой пациентов с алкогольной болезнью печени и группой контроля

В сравнении с группой контроля у пациентов с АБП было отмечено разнонаправленное изменение метаболитов катаболизма триптофана: повышение уровня кинуренина ($p = 0,014$) и снижение уровня серотонина ($p < 0,0001$).

Наблюдалось значительное повышение уровня глутаминовой кислоты ($p < 0,0001$), асимметричного диметиларгинина ($p = 0,001$), а также пролина ($p = 0,011$) и гидроксипролина ($p < 0,0001$) на фоне заболевания печени.

Было установлено повышение пальмитоилкарнитина ($p = 0,001$) и пальмитолеилкарнитина ($p < 0,0001$), олеилкарнитина ($p = 0,0003$) и линолеилкарнитина ($p = 0,015$) у пациентов с АБП.

Обращает на себя внимание существенное изменение метаболизма катехоламинов на фоне токсического повреждения печени. Так, был установлен повышенный уровень тирозина ($p < 0,0001$) и незаменимой кислоты, фенилаланина ($p = 0,002$), а также обнаружено снижение уровня норэпинефрина ($p = 0,010$) и повышение уровня его метаболита метанефрина ($p = 0,005$).

Уровень нейромедиатора ацетилхолина ($p = 0,012$) был статистически значимо снижен у пациентов с АБП.

Различия уровня метаболитов между группой пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и группой контроля

Группы пациентов статистически значимо различались по уровню 3-ОН антраниловой кислоты ($p = 0,002$). Данный метаболит кинуренинового пути катаболизма триптофана был повышен на фоне НАЖБП.

Уровень аминокислоты пролина ($p = 0,010$) и витамина группы В, пантотеновой кислоты ($p = 0,014$) был ниже в группе контроля.

Не было получено статистически значимых изменений в уровне ацилкарнитинов.

Фенилаланин статистически значимо был выше в группе пациентов с НАЖБП ($p = 0,012$), тогда как уровень ацетилхолина сравнительно выше в группе контроля ($p = 0,008$).

3.2. Корреляционный анализ уровня метаболитов с данными лабораторных исследований

Анализ взаимосвязи между изменениями концентраций метаболитов и показателями общего и биохимического анализов крови выявил статистически значимые как положительные, так и отрицательные корреляционные связи разной силы. Статистически значимые для общей когорты данные представлены на рисунке 5.

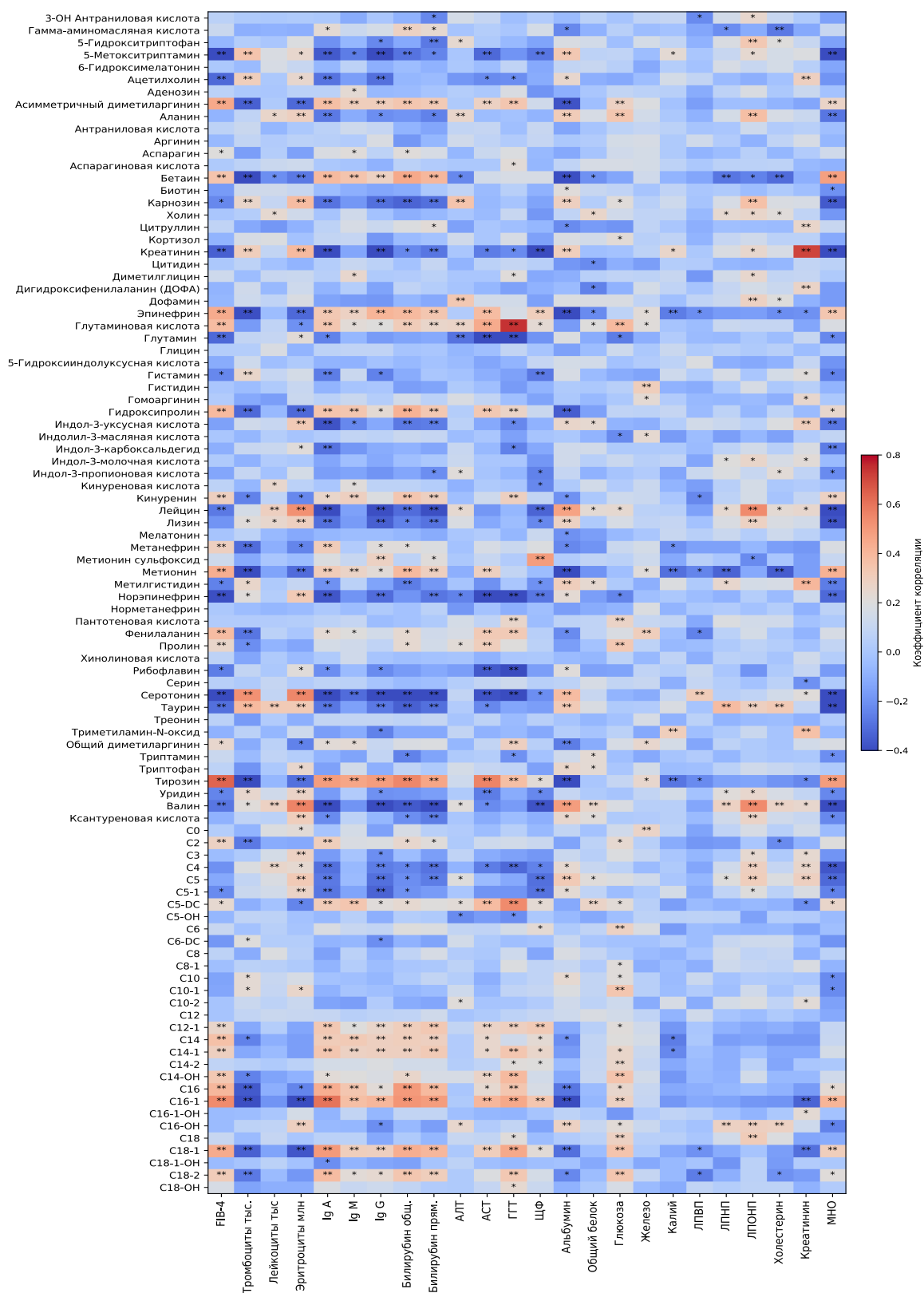


Рисунок 5 – Результаты корреляционного анализа между уровнем метаболитов сыворотки крови и результатами лабораторных данных всех исследованных людей

Следует отметить, что некоторые метаболиты демонстрировали статистически значимую корреляцию лишь с одним из исследованных биохимических показателей. В связи с этим данные взаимосвязи не были включены в итоговую корреляционную матрицу. Так, с уровнем ГГТ были положительно связаны содержание аспарагиновой кислоты ($p < 0,05$) и 3-гидроксистеароилкарнитина ($p < 0,05$). Уровень кортизола и октендиоилкарнитина положительно коррелировал с уровнем глюкозы ($p < 0,05$). Наблюдалась отрицательная корреляция между уровнем цитидина и общего белка ($p < 0,05$), мелатонина и уровнем альбумина ($p < 0,05$). Уровень серина и 3-гидроксипальмитолеилкарнитина отрицательно коррелировал с креатинином ($p < 0,05$). Наблюдалась отрицательная корреляция между уровнем IgA и 3-гидроксипальмитоилкарнитин ($p < 0,05$) и положительная связь между уровнями IgM и аденозина ($p < 0,05$).

Не было установлено статистически значимых корреляционных связей между показателями общего и биохимического анализа крови и следующими метаболитами: 6-гидроксимелатонином, антраниловой кислотой, аргинином, глицином, треонином, 5-гидроксииндолуксусной кислотой, ксантуреновой кислотой, норметанефрином, октаноилкарнитином и лауроилкарнитином.

В исследованной когорте нами был проведен корреляционный анализ показателя расчетного индекса FIB-4 как предиктора вероятности наличия выраженного фиброза печени.

Были выявлены отрицательные связи между показателем индекса и уровнем метаболитов триптофана, 5-метокситриптамина ($r = -0,4, p < 0,001$), ацетилхолином ($r = -0,32, p < 0,001$), карнозином ($r = -0,23, p < 0,05$), креатинином ($r = -0,34, p < 0,001$), глутамином ($r = -0,32, p < 0,001$), гистамином ($r = -0,23, p < 0,05$), лейцином ($r = -0,27, p < 0,001$), валином ($r = -0,28, p < 0,001$), норэпинефрином ($r = -0,39, p < 0,05$), метилгистидина ($r = -0,25, p < 0,05$), рибофлавином ($r = -0,26, p < 0,05$), серотонином ($r = -0,57, p < 0,05$), таурином ($r = -0,3, p < 0,001$) и уридином ($r = -0,24, p < 0,05$)), а также тиглилкарнитина ($r = -0,22, p < 0,05$).

Положительная корреляционная связь наблюдалась с аспарагином ($r = 0,2, p < 0,05$), бетаином ($r = 0,35, p < 0,001$), глутаминовой кислотой ($r = 0,38, p < 0,001$), гидроксипролином ($r = 0,39, p < 0,001$), метионином ($r = 0,43, p < 0,001$), пролином ($r = 0,26, p < 0,001$), фенилаланином ($r = 0,38, p < 0,001$), тирозином ($r = 0,64, p < 0,001$), эпинефрином ($r = 0,44, p < 0,001$), метанефрином ($r = 0,29, p < 0,0001$), кинуренином ($r = 0,29, p < 0,001$), асимметричный диметиларгинином ($r = 0,45, p < 0,001$) и общим диметилглицином ($r = 0,25, p < 0,05$), додеценилкарнитином ($r = 0,26, p < 0,001$), миристоилкарнитином ($r = 0,36, p < 0,001$), тетрадеценилкарнитином ($r = 0,29, p < 0,001$), 3-гидрокситетрадеканойлкарнитином ($r = 0,33, p < 0,001$), пальмитоилкарнитином ($r = 0,4, p < 0,001$), пальмитолеилкарнитином ($r = 0,54, p < 0,001$), олеилкарнитином ($r = 0,44, p < 0,001$), линолеилкарнитином ($r = 0,31, p < 0,001$), ацетилкарнитином ($r = 0,28, p < 0,001$), тиглилкарнитином ($r = 0,22, p < 0,05$) и глутарилкарнитином ($r = 0,25, p < 0,05$).

3.3. Результаты многофакторного анализа (метода главных компонент) при анализе полученных метаболитов и основных клинико-лабораторных показателей

Для снижения размерности полученных данных для статистического анализа нами был выбран факторный анализ методом главных компонент. В результате проведённого анализа было выявлено шесть значимых факторов (компонент), совместно объясняющих свыше половины (около 70%) суммарной дисперсии признаков (Таблица 6).

Таблица 6 – Результаты статистического анализа методом главных компонент

	I фактор	II фактор	III фактор	IV фактор	V фактор	VI фактор
C16-1	0,791214	-0,04588	0,345395	-0,1024	0,267118	0,324598
C2	0,760834	-0,01009	0,371911	0,104971	0,11139	0,153677
C18-1	0,696514	0,17589	0,282389	-0,12391	0,522626	0,242051
Уридин	0,695858	0,368747	-0,07275	0,266581	0,086764	-0,15374

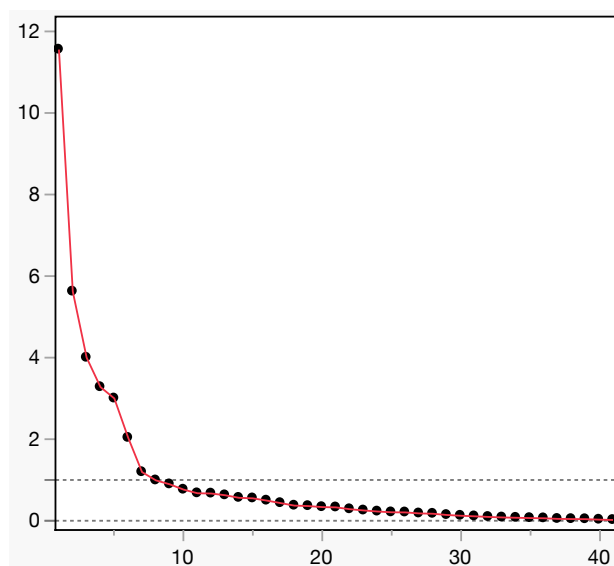
Продолжение Таблицы 6

	I фактор	II фактор	III фактор	IV фактор	V фактор	VI фактор
C18-2	0,631988	0,313659	0,188691	-0,12306	0,479641	0,221093
Метанефрин	0,601865	-0,05583	0,112406	-0,01017	-0,09252	0,228161
Асимметричный диметиларгинин	0,592579	0,254021	0,16092	0,076768	-0,00354	0,410376
Общий диметиларгинин	0,545193	0,300652	0,208992	0,130403	0,057081	0,182531
Серин	-0,03841	0,800921	0,115053	-0,05859	0,103287	0,037497
Холин	0,140257	0,795041	-0,04446	0,009566	0,074207	-0,05704
Глицин	0,201447	0,740583	-0,05246	-1.2E-05	0,006599	0,065367
Диметилглицин	0,366036	0,695658	-0,03115	0,126148	0,080651	-0,0108
Фенилаланин	0,373029	0,63866	0,075422	0,196812	0,176936	0,325927
Таурин	0,027436	0,635303	0,195222	0,194405	0,071748	-0,36214
Аспарагиновая кислота	-0,13313	0,633904	0,063929	0,072088	0,021361	-0,03746
Гистидин	0,02266	0,492663	-0,025	0,420856	-0,02208	0,282725
C12	0,055561	0,061884	0,961476	0,140714	0,072674	-0,03862
C12-1	0,181269	0,000075	0,935912	-0,00139	0,102045	0,087839
C14-1	0,16542	0,0454	0,878665	-0,03419	0,081625	0,127229
C10	0,005216	0,013265	0,836273	0,174467	0,119199	-0,22685
C6	0,476929	0,059094	0,666942	0,096775	0,098078	-0,07574
C14	0,449895	0,037585	0,651995	0,111894	0,181454	0,266136
C14-ОН	0,156621	0,151301	0,490653	0,070212	0,183221	0,22706
C5	0,076426	0,036284	0,107189	0,777046	0,136017	0,046907
C3	0,526434	0,065216	0,02281	0,696051	0,042012	0,050509
Валин	-0,10031	0,491565	0,049243	0,647486	0,027682	-0,15709
C5-1	0,112344	-0,04685	-0,02057	0,620793	0,175671	-0,07138
Лейцин6	-0,05707	0,532085	0,111521	0,612093	0,013488	-0,08756
C0	0,403392	0,03558	0,137183	0,596487	0,115317	0,176688
Лизин	-0,08315	0,254531	0,119084	0,594781	0,020868	-0,06887
C4	0,505612	-0,00272	0,088544	0,58227	-0,07443	-0,15095
Аланин	0,172395	0,508672	0,121552	0,536195	0,008135	0,003733
Креатинин	-0,12773	-0,03796	-0,00062	0,483854	0,061041	-0,07873
Пантотеновая кислота	0,094268	0,040144	0,08712	0,113565	0,944883	-0,04604
Кортизол	0,157601	0,000646	0,122832	0,086981	0,861574	-0,17337
Ксантуреновая кислота	-0,12151	0,008566	0,097809	0,223263	0,854707	-0,00956
C18	0,164677	0,268497	0,302888	0,066576	0,675579	0,091456
Аспарагин	0,242693	0,477158	0,137374	0,189602	0,528518	0,271149
Тирозин	0,236745	-0,00462	0,100131	0,003777	0,080097	0,874897
Метионин	0,162565	0,02456	-0,02787	-0,07033	0,015999	0,707602
Эпинефрин	0,15301	-0,08418	0,070964	-0,13869	-0,12727	0,680652

Первый фактор объяснял примерно 13,96% дисперсии, второй – около 12,84%, третий – около 11,28%, четвёртый – примерно 10,38%, пятый – 7,31% и шестой – порядка 6,56%. Результирующая факторная модель являлась статистически значимой ($p < 0,0001$). Дополнительно адекватность разработанного решения подтверждалась величиной критериев согласия (Хи-квадрат 1298,6, AIC 120,59, BIC -1402,0), а также значением критерия Кайзера-Мейера-Олкина (близким к 0,9), отражающим высокую степень пригодности исходных данных к факторному анализу.

Стоит отметить, что индекс RMSEA составил 0,111, что указывает на то, что модель хоть и описывает структуру данных удовлетворительно, но может быть улучшена при более тонкой калибровке или при выборе иного числа факторов, однако последующее включение факторов (более шести) не приводило к значимому приросту общей объясняющей способности модели и формированию целостных компонент, что также подтверждает адекватность выделения только шести факторов (Рисунок 6). Применение метода вращения варимакс, позволило значительно лучше разделить переменные по факторам: каждый из шести факторов характеризуется специфическим набором высоких нагрузок на те или иные метаболиты и связанные с ними показатели, что в свою очередь означает, что внутри каждого фактора обнаруживается относительно однородная группа признаков, имеющих общую латентную природу.

В совокупности полученная факторная модель даёт основание полагать, что исходный набор метаболических показателей может быть успешно сведён к шести базовым измерениям, отражающим ключевые биохимические пути и взаимодействия между анализируемыми метаболитами.



Примечание: По оси абсцисс представлено количество факторов, по оси ординат – собственные значения (eigenvalues). Ломанная кривая демонстрирует резкое снижение собственных значений на первых факторах, после чего наблюдается стабилизация, что в свою очередь указывает на оптимальное число выделенных факторов

Рисунок 6 – График «каменистой осыпи», полученный в ходе факторного анализа

В отношении выделенных 6 главных компонент нами предложено использование термина *метаболомный фактор*. При этом суммарные изменения внутри определенных метаболомных факторов на фоне заболевания предлагается рассматривать, как отражение метаболомного профиля и соответственно метаболома пациентов в целом. Каждый метаболомный фактор (МФ) представлен метаболитами из различных биохимических путей с наибольшей факторной нагрузкой (более 0,53) и более детально отображен в таблице 7 по мере убывания весового коэффициента.

Таблица 7 – Главные компоненты, выделенные в результате многофакторного анализа метаболитов, в исследуемой популяции в общей когорте включенных в исследование людей

I МФ	II МФ	III МФ	IV МФ	V МФ	VI МФ
Пальмитолеил-карнитин (C16-1)	Серин	Лауроил-карнитин (C12)	Валерил-карнитин (C5)	Пантотеновая кислота	Тирозин
Ацетилкарнитин (C2)	Холин	Додецеаноил-карнитин (C12-1)	Пропионил-карнитин (C3)	Кортизол	Эпинефрин

Продолжение Таблицы 7

Олеoil-карнитин (C18-1)	Глицин	Тетрадеценил-карнитин (C14-1)	Валин	Ксантуреновая кислота	Метионин
Уридин	Диметил-глицин	Деканоил-карнитин (C10)	Тиглил-карнитин (C5-1)	Стеароил-карнитин (C18)	
Линолеил-карнитин (C18-2)	Фенилаланин	Капроил-карнитин (C6)	Лейцин		
Метанефрин	Таурин	Миристоил-карнитин (C14)	Карнитин (C0)		
Асимметричный диметиларгинин	Аспарагиновая кислота		Лизин		
Общий диметиларгинин			Бутирил-карнитин (C4)		
			Аланин		
Примечание: Метаболиты распределены в порядке убывания весового коэффициента по вертикале					

I метаболомный фактор (I МФ) представлен ацетилкарнитинами: короткоцепочечным ацетилкарнитином (C2), длинноцепочечными пальмитолеилкарнитином (C16-1), олеoilкарнитином (C18-1) и линолеилкарнитином (C18-2); нуклеотидом (уридином); метанефрином и двумя фракциями диметиларгинина – общим и асимметричным.

II метаболомный фактор (II МФ) представлен холином, предшественником ацетилхолина, и различными аминокислотами: серином, глицином, аспарагиновой кислотой, фенилаланином и их производными (диметилглицином и таурином).

III метаболомный фактор (III МФ) составляют представители ацетилкарнитинов: лауроилкарнитин (C12), додеценилкарнитин (C12-1), тетрадеценилкарнитин (C14-1), деканоилкарнитин (C10), капроилкарнитин (C6) и миристоилкарнитин (C14).

IV метаболомный фактор (IV МФ) представлен ацетилкарнитинами: валерилкарнитином (C5), пропионилкарнитином (C3), тиглилкарнитином (C5-1),

карнитином (C0), бутирилкарнитином (C4); незаменимыми аминокислотами: валином, лейцином, лизином и одной заменимой аминокислотой – аланином.

V метаболомный фактор (V МФ) представлен витамином B5 (пантотеновой кислотой), кортизолом, метаболитом триптофана (ксантуреновой кислотой) и стеароилкарнитином (C18).

VI метаболомный фактор (VI МФ) представлен метаболитами обмена катехоламинов: условно-заменимой аминокислотой (тирозином), эпинефрином и метанефрином.

Нами проведен сравнительный анализ различий метаболомных факторов пациентов на фоне различной этиологии заболевания и в сравнении с группой контроля (Таблица 8).

Таблица 8 – Различия метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени, неалкогольной жировой болезнью печени и группы контроля

МФ	АБП (n=40) Me [LQ; UQ]	НАЖБП (n=44) Me [LQ; UQ]	Группа контроля (n=14) Me [LQ; UQ]	p	АБП/ НАЖБП	АБП/ Группа контроля	НАЖБП/ Группа контроля
I	0,02 [-0,41; 0,40]	-0,14 [-0,29; 0,13]	-0,47 [-0,53; -0,35]	0,003	0,767	0,003	0,015
II	-0,31 [-0,83; 0,19]	-0,09 [-0,42; 0,74]	-0,24 [-0,59; -0,05]	0,137	0,186	0,998	0,398
III	-0,14 [-0,55; 0,28]	-0,16 [-0,51; 0,35]	-0,09 [-0,46; 0,26]	0,981	0,981	0,997	0,997
IV	-0,37 [-1,11; 0,35]	0,29 [-0,30; 0,84]	-0,05 [-0,54; 0,49]	0,012	0,012	0,545	0,609
V	-0,08 [-0,29; 0,13]	-0,10 [-0,22; 0,01]	-0,22 [-0,37; -0,15]	0,061	0,983	0,078	0,098
VI	0,24 [-0,38; 1,15]	-0,34 [-0,63; 0,11]	-0,54 [-0,70; -0,41]	< 0,0001	0,011	0,0002	0,136

I МФ статистически значимо отличал как пациентов с АБП ($p = 0,003$), так и пациентов с НАЖБП ($p = 0,015$) от группы контроля. У пациентов с заболеванием печени в отличие от здоровых добровольцев было отмечено повышение активности метаболических путей и уровня всех метаболитов (Диаграмма 1).

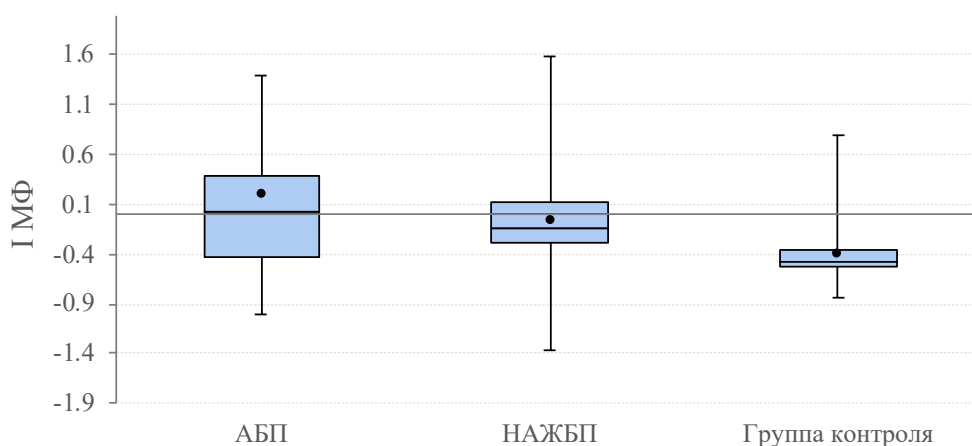


Диаграмма 1 – Значение I метаболомного фактора при различных этиологиях заболевания в сравнении с группой контроля

Метаболомные факторы IV и VI статистически значимо отличали пациентов с АБП от пациентов с НАЖБП ($p = 0,012$ и $p = 0,011$ соответственно). На фоне токсической этиологии заболевания печени наблюдалось повышение активности VI МФ и снижение активности с уменьшением концентрации метаболитов внутри IV метаболомного фактора (Диаграммы 2 и 3).

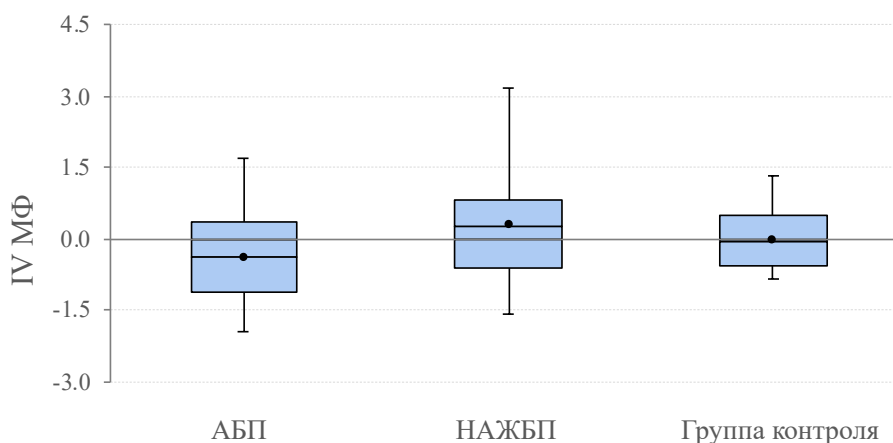


Диаграмма 2 – Значение IV метаболомного фактора при различных этиологиях заболевания в сравнении с группой контроля

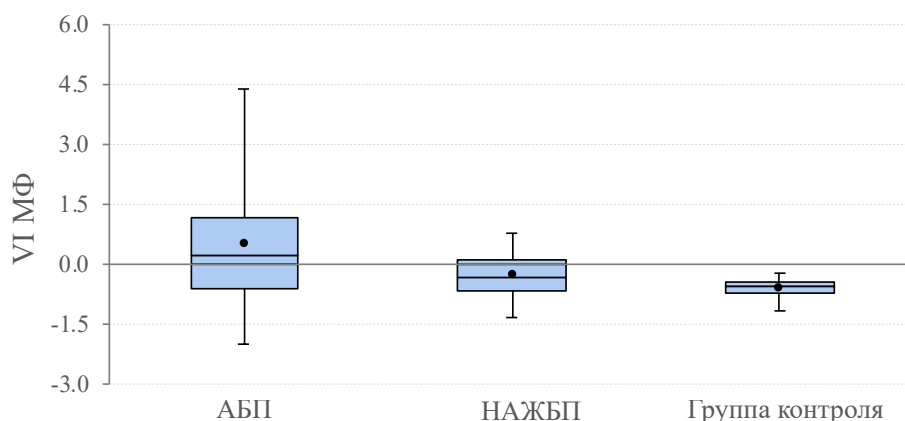


Диаграмма 3 – Значение VI метаболомного фактора при различных этиологиях заболевания в сравнении с группой контроля

Корреляционный анализ метаболомных профилей с клинико-лабораторными данными пациентов

Результаты корреляционного анализа позволили выявить взаимосвязь метаболомных факторов с данными лабораторных методов исследования. В ходе интерпретации полученных данных были отмечены взаимосвязи, представленные в таблице 9.

Таблица 9 – Корреляционная матрица метаболомных профилей пациентов с клинико-лабораторными данными

Показатель	I МФ	II МФ	III МФ	IV МФ	V МФ	VI МФ
ИМТ кг/м ²	0,04	0,15	0,03	0,31**	-0,01	0,25*
Индекс FIB-4	0,32**	0,01	0,12	-0,22*	0,19	0,61**
Лабораторные показатели						
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л	-0,29**	0,04	0,00	0,13	-0,17	-0,63**
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	-0,15	0,14	0,02	0,24*	-0,06	-0,17
Эритроциты, × 10 ¹² /л	-0,25*	0,14	-0,03	0,46**	-0,22*	-0,31**
Ig A, г/л	0,31**	-0,04	0,21*	-0,45**	0,21*	0,39**
Ig M, г/л	0,13	0,02	0,10	-0,13	0,22*	0,33**
Ig G, г/л	0,16	0,00	0,19	-0,39**	0,05	0,44**
Билирубин общий, мкмоль/л	0,33**	-0,14	0,18	-0,24*	0,07	0,49**
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,27**	-0,12	0,23*	-0,33**	0,07	0,39**
АЛТ, ед/л	-0,16	0,02	0,01	0,15	0,10	0,11

Продолжение Таблицы 9

Показатель	I МФ	II МФ	III МФ	IV МФ	V МФ	VI МФ
АСТ, ед/л	0,02	-0,02	0,14	-0,19	0,22*	0,54**
ГГТ, ед/л	0,19	0,14	0,19	-0,25*	0,39**	0,34**
ЩФ, ед/л	0,18	-0,04	0,24*	-0,34**	-0,01	0,21*
Альбумин, г/л	-0,31**	0,05	0,01	0,37**	-0,08	-0,45**
Общий белок, г/л	-0,10	0,12	0,13	0,10	-0,04	-0,08
Глюкоза, ммоль/л	0,16	0,13	0,17	0,11	0,25*	0,07
Железо, мкмоль/л	-0,01	0,10	0,10	0,12	-0,01	0,25*
ЛПВП, ммоль/л	-0,22*	-0,03	0,11	-0,10	-0,20	-0,18
ЛПНП, ммоль/л	-0,09	0,15	-0,08	0,14	0,15	-0,18
ЛПОНП, ммоль/л	0,02	0,24*	-0,11	0,36**	0,15	-0,09
Холестерин, ммоль/л	-0,15	0,15	-0,05	0,14	0,1	-0,2*
Калий, ммоль/л	0,10	0,03	-0,16	0,04	0,03	-0,28**
Креатинин, мкмоль/л	-0,06	-0,07	-0,09	0,36**	-0,16	-0,16
МНО	0,24*	-0,10	0,00	-0,39**	0,16	0,48**
Примечание: * – статистическая значимость < 0,05; ** – статистическая значимость < 0,001						

Результаты анализа позволили выявить взаимосвязь метаболомных профилей пациентов с результатами лабораторных исследований. При интерпретации полученных данных нами отмечены статистически значимые корреляционные связи. Так, взаимосвязь факторов с развитием цирроза печени отражает статистически значимая положительная корреляция индекса FIB-4 и метаболитов внутри I МФ ($p < 0,001$) и VI МФ ($p < 0,001$) и отрицательная корреляция с IV МФ ($p < 0,05$).

Повышение уровня метаболитов I МФ статистически значимо коррелировало с проявлениями печеночной недостаточности: гипоальбуминемией ($p < 0,001$), гипербилирубинемией ($p < 0,001$) и гипокоагуляцией ($p < 0,05$). Также I метаболомный фактор ассоциирован с тромбоцитопенией ($p < 0,001$) и анемией ($p < 0,05$), снижением уровня ЛПВП ($p < 0,05$) и повышением уровня IgA ($p < 0,001$).

II Метаболомный фактор положительно коррелировал с уровнем ЛПОНП ($p < 0,05$).

Наблюдалась положительная корреляция между III метаболомным фактором и уровнем ЩФ, прямого билирубина и IgA ($p < 0,05$).

Метаболиты IV МФ были в большей степени ассоциированы со снижением уровня маркеров холестаза (ЩФ ($p < 0,001$), ГГТ ($p < 0,05$)) и билирубина ($p < 0,05$),

уменьшением показателя гипокоагуляции (МНО ($p < 0,001$)) и уровней фракций иммуноглобулинов (IgG ($p < 0,001$) и IgA ($p < 0,001$)). При этом наблюдалась положительная корреляция между концентрацией метаболитов сыворотки крови и уровнем альбумина ($p < 0,001$), повышением количества лейкоцитов ($p < 0,05$) и эритроцитов ($p < 0,001$) в общем анализе крови.

V метаболомный фактор был ассоциирован с повышенной секрецией иммуноглобулинов фракций А ($p < 0,05$) и М ($p < 0,05$). Была отмечена положительная корреляционная связь с гипергликемией ($p < 0,05$), повышением уровня ГГТ ($p < 0,001$) и АСТ ($p < 0,05$), а также тенденцией к анемии ($p < 0,05$) в общем анализе крови.

Наиболее сильная корреляционная связь наблюдалась при анализе VI метаболомного фактора. В сочетании со значимой положительной корреляционной связью уровня метаболитов с показателем расчетного индекса FIB-4 ($p < 0,001$), наблюдалась связь с развитием тромбоцитопении в общем анализе крови ($p < 0,001$). У пациентов преобладание VI МФ коррелировало с гипербилирубинемией ($p < 0,001$), гипоальбуминемией ($p < 0,001$), повышением маркеров холестаза (ГГТ ($p < 0,001$) и ЩФ ($p < 0,05$)) и уровнем АСТ ($p < 0,001$), дисбалансом секреции иммуноглобулинов всех фракций ($p < 0,001$).

3.4. Клинико-лабораторные данные пациентов с циррозом печени, включенных в исследование

Так как исследованные нозологические формы представляют собой неуклонно прогрессирующие заболевания печени, нами была предпринята попытка поиска особенностей метаболомного профиля пациентов с циррозом печени в исходе АБП и НАЖБП. Для увеличения статистической мощности анализа было проведено сравнение группы с установленным циррозом печени и группы лиц без цирроза, представленной пациентами на доцирротической стадии заболевания и здоровыми добровольцами. В данном случае включение здоровых добровольцев в статистический анализ обосновано с точки зрения повышения

достоверности и интерпретируемости выявляемых латентных переменных. При объединении данных пациентов с заболеваниями печени и здоровых субъектов, факторный анализ становится более чувствительным к выявлению отклонений, присущих патологическим состояниям, поскольку условно здоровая выборка задает базовый уровень физиологических показателей, что в конечном итоге позволяет оценить не только те переменные, которые демонстрируют измененную взаимосвязь в условиях болезни, но и выделить определенные факторы, которые отражают нормальный биохимический фон организма.

Таким образом, включение здоровых добровольцев способствует корректной калибровке модели, помогает отделить естественную изменчивость данных от патологических вариаций и обеспечивает объективную оценку вклада каждого выявленного фактора в общую дисперсию. Кроме того, объединённая выборка увеличивает статистическую мощность анализа, что особенно важно при изучении сложных биохимических систем, где закономерности могут быть неочевидны при сравнительно ограниченной вариативности выборки, характерной для однородных групп пациентов. Напротив, исключение здоровой выборки может увеличивать риск смещения и, как следствие, систематической ошибки.

Общие клинико-лабораторные данные представленных подгрупп описаны в таблице 10.

Таблица 10 – Сравнительная характеристика клинико-лабораторных данных пациентов с циррозом печени (различной этиологии: в исходе АБП и НАЖБП) и группы без цирроза печени

Переменная		Цирроз печени (n=39)	Без цирроза печени (n=59)	Значение p
Демографические данные				
Пол, n (%)	Мужчины	17 (43,59%)	24 (40,68%)	0,774
	Женщины	22 (56,41%)	35 (59,32%)	
Возраст, годы		56,00 [42,50; 61,50]	48,00 [40,50; 60,00]	0,254
ИМТ, кг/м ²		27,76 [22,68; 32,17]	27,80 [23,64; 33,12]	0,642
Лабораторные показатели				
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л		143,00 [81,00; 179,50]	262,00 [226,50; 304,50]	< 0,0001
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л		5,24 [4,06; 6,52]	6,04 [5,00; 7,49]	0,014

Продолжение таблицы 10

Переменная	Цирроз печени (n=39)	Без цирроза печени (n=59)	Значение p
Эритроциты, × 10 ¹² /л	3,94 [3,38; 4,42]	4,74 [4,46; 5,04]	< 0,0001
Ig A, г/л	5,20 [3,58; 7,82]	2,57 [2,04; 3,30]	< 0,0001
Ig M, г/л	1,79 [1,23; 2,90]	1,25 [0,82; 1,43]	< 0,0001
Ig G, г/л	16,04 [13,44; 19,81]	11,12 [9,31; 13,04]	< 0,0001
Билирубин общий, мкмоль/л	31,80 [16,60; 47,85]	12,20 [9,85; 17,95]	< 0,0001
Билирубин прямой, мкмоль/л	10,01 [3,60; 20,11]	2,50 [1,85; 3,20]	< 0,0001
АЛТ, ед/л	26,00 [21,00; 39,00]	32,00 [18,00; 55,00]	0,316
АСТ, ед/л	53,00 [34,50; 60,50]	25,00 [21,50; 35,50]	< 0,0001
ГГТ, ед/л	96,00 [55,50; 288,50]	30,00 [19,00; 45,63]	< 0,0001
ЩФ, ед/л	131,00 [103,00; 265,00]	85,00 [65,00; 149,50]	0,0003
Альбумин, г/л	36,50 [34,00; 42,85]	45,00 [43,15; 46,80]	< 0,0001
Общий белок, г/л	72,00 [68,00; 75,00]	72,00 [70,00; 75,25]	0,419
Глюкоза, ммоль/л	5,39 [4,99; 6,90]	5,40 [4,80; 5,94]	0,319
Железо, мкмоль/л	18,51 [13,75; 23,65]	16,84 [13,20; 19,90]	0,163
ЛПВП, ммоль/л	1,05 [0,87; 1,27]	1,15 [1,01; 1,44]	0,038
ЛПНП, ммоль/л	3,08 [2,59; 4,00]	3,47 [2,97; 4,16]	0,073
ЛПОНП, ммоль/л	0,59 [0,44; 0,70]	0,68 [0,53; 0,88]	0,063
Холестерин, ммоль/л	4,56 [3,86; 5,76]	5,29 [4,51; 6,20]	0,015
Калий, ммоль/л	4,40 [4,15; 4,60]	4,50 [4,30; 4,80]	0,110
Креатинин, мкмоль/л	76,00 [66,50; 83,50]	85,00 [76,00; 93,00]	0,007
МНО	1,27 [1,14; 1,58]	1,03 [0,96; 1,08]	< 0,0001
Сопутствующие заболевания			
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	10 (25,64%)	12 (20,69%)	0,568
Гипертоническая болезнь, n (%)	14 (35,90%)	26 (44,07%)	0,420
Расчетный индекс FIB-4, n (%)			
< 1.45: предиктор отсутствия фиброза, n (%)	4 (10,26%)	47 (79,66%)	< 0,0001
от 1.45 до 3.25: неопределенный уровень, n (%)	15 (38,46%)	11 (18,64%)	
> 3.25: предиктор значимого фиброза, n (%)	20 (51,28%)	1 (1,69%)	
Класс цирроза печени по шкале Child-Pugh			
Нет цирроза, n (%)	0 (0,00%)	59 (100%)	< 0,0001
Класс А, n (%)	16 (41,03%)	0 (0,00%)	
Класс В, n (%)	15 (38,46%)	0 (0,00%)	
Класс С, n (%)	8 (20,51%)	0 (0,00%)	

Группы были сопоставимы по демографическим характеристикам (возрасту, полу) и массе тела ($p > 0,05$).

Большая часть показателей общего и биохимического анализа крови существенно различали пациентов. На фоне цирроза печени ожидаемо было отмечено нарушение белково-синтетической функции печени в виде снижения уровня альбумина ($p < 0,0001$), вместе с этим, уровень общего белка сыворотки крови не различался в сравнении с группой без цирроза печени ($p = 0,419$). Не наблюдалось значимых различий в группах пациентов между количеством лейкоцитов ($p = 0,014$), уровнем АЛТ ($p = 0,316$) и железа ($p = 0,163$).

При сопоставлении группы не различались по наличию сопутствующих заболеваний: гипертонической болезни ($p = 0,420$) и сахарного диабета 2 типа ($p = 0,568$). Уровень глюкозы в плазме крови натощак также статистически значимо не различался ($p = 0,319$). Липидный профиль (уровень ЛПНП, ЛПОНП, холестерина) не отличался между группой пациентов с ЦП и группой без цирроза, однако уровень ЛПВП статистически значимо был выше в группе без ЦП ($p = 0,038$).

Пациентов с циррозом печени отличало статистически значимое повышение маркеров холестаза (ГГТ ($p < 0,0001$), ЩФ ($p = 0,0003$)), гипербилирубинемия за счет обеих фракций ($p < 0,0001$), повышение всех фракций иммуноглобулинов ($p < 0,0001$), лабораторные признаки гипокоагуляции (тромбоцитопения и повышение уровня МНО) ($p < 0,0001$). Уровни калия и креатинина, потенциально отражающие повреждение почек, не различались среди групп.

Расчетный индекс FIB-4, как предиктор отсутствия или наличия значимого фиброза печени, статистически значимо различался в указанных группах ($p < 0,0001$).

По данным целевого метаболомного анализа, группа пациентов с циррозом печени существенно отличалась от лиц без цирроза печени по уровню ряда метаболитов. Статистически значимые различия концентраций метаболитов представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Статистически значимые различия концентраций метаболитов сыворотки крови у пациентов с циррозом печени (АБП и НАЖБП) и группы без цирроза печени

Метаболит	Цирроз печени (n=39)	Без цирроза печени (n=59)	Значение p
Метаболиты триптофана			
5-Метокситриптами	0,64 [0,53; 0,77]	0,81 [0,68; 0,88]	0,002
Индол-3-уксусная кислота	1,19 [0,81; 1,53]	1,55 [1,04; 2,43]	0,001
Индол-3-карбоксальдегид	0,51 [0,43; 0,66]	0,65 [0,53; 0,76]	0,005
Индол-3-пропионовая кислота	0,43 [0,14; 0,84]	0,62 [0,38; 0,98]	0,022
Кинуренин	2,12 [1,63; 2,70]	1,55 [1,17; 1,93]	0,0002
Серотонин	0,35 [0,21; 0,69]	1,29 [0,87; 2,08]	< 0,0001
Аминокислоты и их метаболиты			
Аденозин	255,78 [215,33; 310,61]	291,28 [252,05; 355,57]	0,032
Аланин	277,19 [209,46; 313,38]	215,78 [194,98; 248,21]	0,010
Асимметричный диметиларгинин	0,38 [0,31; 0,45]	0,29 [0,24; 0,35]	< 0,0001
Бетаин	31,33 [17,19; 57,75]	12,72 [8,25; 22,82]	< 0,0001
Карнозин	0,80 [0,50; 1,58]	1,48 [0,90; 2,24]	0,003
Глутаминовая кислота	677,86 [366,37; 980,15]	344,52 [241,93; 467,24]	< 0,0001
Глутамин	118,97 [42,92; 164,66]	164,94 [128,88; 199,85]	0,001
Гидроксипролин	12,18 [8,35; 17,77]	7,51 [5,81; 11,34]	0,0003
Лейцин	103,85 [87,04; 144,62]	129,96 [110,99; 157,91]	0,004
Лизин	244,81 [225,95; 284,24]	279,30 [256,09; 296,94]	0,0007
Метионин	36,55 [21,64; 43,67]	21,09 [14,62; 25,92]	< 0,0001
Метилгистидин	5,19 [2,98; 9,71]	7,83 [4,06; 11,83]	0,041
Таурин	49,15 [36,74; 72,13]	89,69 [51,48; 113,54]	0,001
Валин	148,72 [117,21; 201,55]	199,52 [173,56; 227,67]	0,0002
Общий диметиларгинин	0,79 [0,62; 0,92]	0,63 [0,55; 0,77]	0,008
Витамины группы В			
Рибофлавин	0,06 [0,04; 0,08]	0,09 [0,07; 0,10]	0,001
Ацилкарнитины			
Ацетилкарнитин (C2)	9,56 [6,48; 14,21]	7,40 [5,29; 9,20]	0,022
Пропионилкарнитин (C3)	0,26 [0,17; 0,44]	0,36 [0,25; 0,48]	0,039
Бутирилкарнитин (C4)	0,07 [0,05; 0,11]	0,12 [0,09; 0,17]	0,0006
Валерилкарнитин (C5)	0,02 [0,02; 0,04]	0,04 [0,03; 0,05]	0,005
Глутарилкарнитин (C5-DC)	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	0,003
Миристоилкарнитин (C14)	0,13 [0,09; 0,16]	0,09 [0,06; 0,13]	0,020
3-Гидрокси-тетрадеcanoилкарнитин (C14-OH)	0,00 [0,00; 0,01]	0,00 [0,00; 0,01]	0,011
Пальмитоилкарнитин (C16)	0,10 [0,08; 0,13]	0,08 [0,07; 0,09]	0,001
Оксо-пальмитолелкарнитин (C16-1)	0,02 [0,01; 0,02]	0,01 [0,01; 0,01]	< 0,0001
3-Гидроксипальмитоилкарнитин (C16-OH)	0,02 [0,02; 0,03]	0,02 [0,02; 0,03]	0,032
Олеоилкарнитин (C18-1)	0,09 [0,06; 0,11]	0,06 [0,04; 0,07]	< 0,0001
Линолеилкарнитин (C18-2)	0,06 [0,05; 0,08]	0,04 [0,03; 0,06]	0,001

Продолжение таблицы 11

Метаболит	Цирроз печени (n=39)	Без цирроза печени (n=59)	Значение p
Метаболиты катехоламинов			
Эпинефрин	1,16 [0,85; 1,50]	0,82 [0,62; 0,97]	< 0,0001
Метанефрин	0,01 [0,01; 0,02]	0,01 [0,00; 0,01]	0,004
Норэпинефрин	0,69 [0,49; 1,32]	1,25 [0,98; 1,74]	0,0002
Фенилаланин	82,74 [71,24; 99,28]	65,26 [58,63; 80,61]	0,0009
Тирозин	100,03 [86,17; 137,69]	69,05 [56,49; 83,23]	< 0,0001
Другие метаболиты:			
Ацетилхолин	34,24 [23,21; 39,78]	43,68 [29,19; 56,11]	0,004
Креатинин	12,33 [9,65; 15,40]	17,74 [13,29; 20,73]	0,0006
Уридин	3,59 [2,82; 5,32]	4,50 [3,47; 5,83]	0,049

Установлены разнонаправленные изменения уровня метаболитов триптофана. Уровни серотонина ($p < 0,0001$) и 5-метокситриптамина ($p = 0,002$) статистически значимо были снижены на фоне прогрессирования заболевания до цирроза печени, вместе с этим было отмечено повышение кинуренина ($p = 0,0002$). Наблюдалось статистически значимое снижение уровня микробных метаболитов индольного пути катаболизма триптофана: индол-3-уксусной кислоты ($p = 0,001$), индол-3-карбоксальдегида ($p = 0,005$) и индол-3-пропионовой кислоты ($p = 0,022$).

Наблюдалось снижение уровня водорастворимого витамина В2 (рибофлавина) ($p = 0,001$), как и креатинина ($p = 0,0006$).

На фоне цирроза печени у пациентов были установлены изменения уровня незаменимых аминокислот: снижение лейцина ($p = 0,004$), лизина ($p = 0,0007$) и валина ($p = 0,0002$), повышение уровня метионина ($p < 0,0001$).

Разнонаправленные изменения заменимых аминокислот: снижение аденозина ($p = 0,032$), глутамина ($p = 0,001$) и повышение уровня аланина ($p = 0,010$), глутаминовой кислоты ($p < 0,0001$). Были зафиксированы изменения и в уровнях производных аминокислот: повышение бетаина ($p < 0,0001$), гидроксипролина ($p = 0,0003$) и асимметричного диметиларгинина ($p < 0,0001$) со снижением общего диметиларгинина ($p = 0,008$), а также уровня карнозина ($p = 0,003$), метилгистидина ($p = 0,041$) и таурина ($p = 0,001$).

Вместе с изменением уровня аминокислот на фоне ЦП нами отмечен сниженный уровень нуклеозида, уридина ($p = 0,049$).

Анализ выявил изменение уровней исследуемых ацилкарнитинов: повышение ацетилкарнитина (C2) ($p = 0,022$), глутарилкарнитина (C5-DC) ($p = 0,003$), миристоилкарнитина (C14) ($p = 0,020$), 3-гидрокситетрадеканойлкарнитина (C14-OH) ($p = 0,011$), пальмитоилкарнитина (C16) ($p = 0,001$), пальмитолеилкарнитина (C16-1) ($p < 0,0001$), олеилкарнитина (C18:1) ($p < 0,0001$), линолеилкарнитина (C18-2) ($p = 0,001$); снижение пропионилкарнитина (C3) ($p = 0,039$), бутирилкарнитина (C4) ($p = 0,0006$), валерилкарнитина (C5) ($p = 0,005$) и 3-гидроксипальмитоилкарнитина (C16-OH) ($p = 0,032$).

У пациентов с ЦП выявлены изменения в обмене катехоламинов на фоне повышенного уровня фенилаланина ($p = 0,0009$) и тирозина ($p = 0,0002$). Выявлено повышение уровня эпинефрина ($p < 0,0001$), снижение его предшественника норэпинефрина ($p = 0,0002$) и его метаболита метанефрина ($p = 0,004$).

Уровень ацетилхолина был статистически значимо снижен у пациентов с ЦП ($p = 0,004$).

При анализе данных пациентов с циррозом печени и группы контроля нами не было выявлено статистически значимых различий между уровнем 3-ОН антраниловой кислоты, антраниловой кислоты, 5-гидрокситриптофана, 6-гидроксимелатонина, 5-гидроксииндолуксусной кислоты, индолил-3-масляной кислоты, индол-3-молочной кислоты, кинуреновой кислоты, мелатонина, хинолиновой кислоты, триптамина, триптофана, ксантуреновой кислоты, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, цитидина, диметилглицина, глицина, гистидина, гомоаргинина, метионин сульфоксида, пролина, серина, треонина, биотина, пантотеновой кислоты, карнитина, деканоилкарнитина, деценоилкарнитина, декадиеноилкарнитина, лауроилкарнитина, додеценоилкарнитина, тетрадеценоилкарнитина, тетрадекадиеноилкарнитина, 3-гидрокситетрадеканойлкарнитина, пальмитоилкарнитина, пальмитолеилкарнитина, 3-гидроксипальмитолеилкарнитина, 3-гидроксипальмитоилкарнитина,

стеароилкарнитина, олеоилкарнитина, 3-гидроксиоктадеценилкарнитина, линолеилкарнитина, 3-гидроксистеароилкарнитина, тиглилкарнитина, 3-гидроксиизовалерилкарнитина, капроилкарнитина, адипоилкарнитина, октаноилкарнитина, октендиоилкарнитина, дигидроксифенилаланина (ДОФА), дофамина, норметанефрина, гамма-аминомасляной кислоты, холина, кортизола, гистамина, триметиламин-N-оксида.

При последующем анализе полученных данных для выявления связи между определенными метаболитами и наличием цирроза печени, как в исходе АБП, так и в исходе НАЖБП, применялись модели бинарной логистической регрессии с определением отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ). Статистически значимые ассоциации изменения метаболомного профиля пациентов с наличием цирроза печени представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Статистически значимые результаты модели бинарной логистической регрессии концентраций метаболитов сыворотки крови у пациентов с циррозом печени в исходе АБП и НАЖБП

Метаболит	ОШ	95% ДИ	Значение p
Метаболиты триптофана			
Индол-3-уксусная кислота	0,348	0,174 - 0,697	0,0029
Индол-3-карбоксальдегид	0,036	0,003 - 0,454	0,0102
Кинуренин	2,931	1,559 - 5,510	0,0008
Серотонин	0,038	0,010 - 0,149	< 0,0001
Аминокислоты и их метаболиты			
Аланин	0,995	0,990 - 1,000	0,0486
Бетаин	1,050	1,024 - 1,078	0,0002
Карнозин	0,553	0,341 - 0,895	0,016
Глутаминовая кислота	1,002	1,001 - 1,004	0,0005
Глутамин	0,990	0,984 - 0,997	0,003
Лейцин	0,988	0,977 - 0,999	0,0302
Лизин	0,984	0,974 - 0,994	0,0025
Метионин	1,103	1,051 - 1,158	0,0001
Метилгистидин	0,923	0,855 - 0,997	0,0423
Таурин	0,983	0,972 - 0,995	0,0049
Валин	0,986	0,978 - 0,995	0,0013
Общий диметиларгинин	20,229	2,484 - 164,750	0,005
Ацилкарнитины			
Ацетилкарнитин (C2)	1,084	1,005 - 1,169	0,0379
Бутирилкарнитин (C4)	0,000	0,000 - 0,332	0,0244

Продолжение Таблицы 12

Метаболит	ОШ	95% ДИ	Значение р
Метаболиты катехоламинов			
Эпинефрин	26,504	5,692 - 123,411	< 0,0001
Норэпинефрин	0,245	0,108 - 0,557	0,0008
Фенилаланин	1,026	1,007 - 1,046	0,007
Тирозин	1,061	1,033 - 1,089	< 0,0001
Другие метаболиты:			
Ацетилхолин	0,975	0,953 - 0,997	0,0264
Креатинин	0,880	0,805 - 0,961	0,0045

Для оценки влияния этиологического фактора на изменения метаболома пациентов с циррозом печени нами был проведен анализ подгрупп пациентов с ЦП в исходе АБП и НАЖБП. Дополнительные клиничко-лабораторные данные изучаемых подгрупп представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Сравнительная характеристика клиничко-лабораторных данных пациентов с циррозом печени различной этиологии

Переменная	Цирроз печени в исходе АБП (n=31)	Цирроз печени в исходе НАЖБП (n=8)	Значение р
ИМТ, кг/м²	25,70 [22,02; 31,63]	32,08 [30,30; 34,84]	0,018
Лабораторные показатели			
Тромбоциты, × 10 ⁹ /л	139,00 [81,00; 195,00]	158,50 [101,25; 176,50]	0,944
Лейкоциты, × 10 ⁹ /л	4,99 [3,96; 6,87]	5,76 [4,28; 6,18]	0,486
Эритроциты, × 10 ¹² /л	3,68 [3,21; 4,20]	4,48 [4,15; 4,63]	0,014
Ig A, г/л	5,93 [4,46; 9,18]	3,55 [2,95; 4,11]	0,005
Ig M, г/л	2,09 [1,34; 3,36]	1,31 [0,98; 1,71]	0,041
Ig G, г/л	16,24 [14,38; 20,16]	13,85 [10,83; 15,86]	0,070
Билирубин общий, мкмоль/л	35,30 [23,50; 74,60]	16,05 [12,18; 23,32]	0,014
Билирубин прямой, мкмоль/л	11,80 [7,40; 28,75]	3,35 [2,30; 4,55]	0,004
АЛТ, ед/л	23,00 [18,00; 35,00]	33,50 [28,00; 53,25]	0,033
АСТ, ед/л	55,00 [34,50; 61,50]	44,50 [39,00; 52,25]	0,216
ГГТ, ед/л	99,00 [55,50; 308,00]	69,00 [58,75; 147,50]	0,486
ЩФ, ед/л	140,00 [105,00; 287,00]	116,50 [71,75; 140,50]	0,109
Альбумин, г/л	35,00 [33,95; 38,65]	44,70 [42,03; 45,00]	0,012
Общий белок, г/л	71,00 [67,50; 75,00]	74,00 [70,25; 76,00]	0,356
Глюкоза, ммоль/л	5,30 [4,99; 6,08]	6,90 [5,24; 7,60]	0,174
Железо, мкмоль/л	18,80 [13,30; 24,85]	18,30 [16,65; 23,15]	0,807
ЛПВП, ммоль/л	1,05 [0,89; 1,23]	1,16 [0,86; 1,34]	0,613
ЛПНП, ммоль/л	3,05 [2,49; 3,88]	3,25 [2,88; 4,32]	0,444

Продолжение Таблицы 13

Переменная	Цирроз печени в исходе АБП (n=31)	Цирроз печени в исходе НАЖБП (n=8)	Значение p
ЛПОНП, ммоль/л	0,53 [0,42; 0,64]	1,05 [0,83; 1,21]	0,0001
Холестерин, ммоль/л	4,47 [3,81; 5,46]	5,03 [4,37; 6,09]	0,296
Калий, ммоль/л	4,40 [4,10; 4,60]	4,50 [4,20; 4,68]	0,587
Креатинин, мкмоль/л	75,00 [65,00; 82,00]	78,00 [71,25; 87,00]	0,374
МНО	1,36 [1,17; 1,64]	1,15 [1,06; 1,20]	0,006
Сопутствующие заболевания			
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	4 (12,90%)	6 (75,00%)	0,0003
Гипертоническая болезнь, n (%)	7 (22,58%)	7 (87,50%)	0,0006
Осложнения цирроза печени			
Печеночная энцефалопатия, n (%)	13 (41,94%)	1 (12,50%)	0,121
Наличие желтухи, n (%)	17 (54,84%)	0 (0,00%)	0,005
Асцит по классификации IAC, n (%)	14 (45,16%)	0 (0,00%)	0,017
Печеночная недостаточность (гипоальбуминемия, гипокоагуляция), n (%)	22 (70,97%)	1 (12,50%)	0,002
Результаты инструментальных методов исследования			
Признаки портальной гипертензии по данным УЗИ, n (%)	28 (90,32%)	6 (75,00%)	0,247
Признаки портальной гипертензии по данным ЭГДС (ВРВП, ВРВЖ), n (%)	18 (62,07%)	4 (50,00%)	0,538
Класс цирроза печени по шкале Child-Pugh			
Нет цирроза, n (%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0,027
Класс А, n (%)	9 (29,03%)	7 (87,50%)	
Класс В, n (%)	14 (45,16%)	1 (12,50%)	
Класс С, n (%)	8 (25,81%)	0 (0,00%)	

Существенную долю пациентов с ЦП в исходе НАЖБП ожидаемо составляли пациенты с избыточной массой тела или ожирением ($p = 0,018$), а также сопутствующими метаболическими заболеваниями: сахарным диабетом 2 типа ($p = 0,0003$) и гипертонической болезнью ($p = 0,0006$). По данным биохимического

анализа крови, цирроз печени в исходе НАЖБП характеризовался гиперхолестеринемией ($p = 0,0001$).

Среди наших пациентов с ЦП токсической этиологии было существенно больше пациентов с декомпенсированным циррозом печени. Цирроз печени в исходе АБП отличал повышенный уровень IgA ($p = 0,005$) и IgM ($p = 0,041$). Также у этих пациентов чаще наблюдались осложнения ЦП ($p < 0,0001$), такие как желтуха, асцит, лабораторные признаки печеночной недостаточности (гипокоагуляция, гипербилирубинемия, гипоальбуминемия). Эти данные объясняют различное количество пациентов с декомпенсированным циррозом печени по классификации Child-Pugh в группах с разными этиологическими факторами заболевания. У большинства пациентов в подгруппе с ЦП в исходе АБП наблюдались признаки портальной гипертензии по данным ультразвукового исследования органов брюшной полости (спленомегалия и/или расширение диаметра сосудов портальной системы и/или портоинозные коллатерали и/или асцит), а также эзофагогастродуоденоскопии (эндоскопическая картина варикозно-расширенных вен желудка (ВРВЖ) и/или варикозно-расширенных вен пищевода (ВРВП)).

С учетом различий, выявленных в ходе анализа пациентов с циррозом печени, было логично исследовать влияние этиологического фактора на метаболиты в данной подгруппе. При анализе пациентов с ЦП различной этиологии, нами были выявлены статистически значимые различия между группами (Таблица 14).

Таблица 14 – Изменение уровня метаболитов сыворотки крови у пациентов с циррозом печени различной этиологии (АБП и НАЖБП)

Метаболит	Цирроз печени АБП (n=31)	Цирроз печени НАЖБП (n=8)	Значение p
Метаболиты триптофана			
Индол-3-молочная кислота	0,36 [0,25; 0,42]	0,58 [0,39; 0,69]	0,021
Аминокислоты и их метаболиты			
Бетаин	7,89 [6,56; 10,91]	13,19 [8,76; 24,90]	0,047
Глутамин	103,42 [36,63; 130,19]	172,65 [137,80; 209,62]	0,009

Продолжение Таблицы 14

Витамины группы В			
Пантотеновая кислота	0,12 [0,11; 0,14]	0,18 [0,13; 0,21]	0,043
Метаболиты катехоламинов			
Дофамин	0,41 [0,39; 0,41]	0,29 [0,20; 0,34]	0,026
Норэпинефрин	0,74 [0,42; 1,46]	1,36 [1,05; 1,84]	0,011
Другие метаболиты:			
Уридин	3,87 [2,99; 4,08]	5,23 [4,01; 6,51]	0,041

Установлено статистически значимое повышение уровня метаболита триптофана, индол-3-молочной кислоты, аминокислот (бетаина, глутамина, уридина), пантотеновой кислоты и норэпинефрина у пациентов с ЦП в исходе НАЖБП. У пациентов с ЦП в исходе АБП в сыворотке крови статистически значимо наблюдалось повышение уровня дофамина. В уровне прочих метаболитов статистически значимых различий между этиологическими факторами цирроза печени выявлено не было.

Мы исследовали потенциальные различия метаболомного профиля пациентов с циррозом печени, беря во внимание клиническое проявление заболевания по шкале тяжести по классификации Child-Pugh, с учетом явлений печеночной энцефалопатии, асцита, гипоальбуминемии, гипокоагуляции и гипербилирубинемии. Статистически значимые различия в уровнях метаболитов в зависимости от степени тяжести цирроза печени по классификации Child-Pugh представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Изменение уровня метаболитов сыворотки крови у пациентов с циррозом печени по классификации Child-Pugh и группы контроля

Метаболит	Группа контроля (n=59)	Класс А Child-Pugh (n=16)	Класс В Child-Pugh (n=15)	Класс С Child-Pugh (n=8)	Значение Р
Метаболиты триптофана					
Серотонин	1,29 [0,87; 2,08]	0,58* [0,36; 0,86]	0,32* [0,23; 0,59]	0,17* [0,12; 0,28]	< 0,0001
Аминокислоты и их метаболиты					
Асимметричный диметиларгинин	0,29 [0,24; 0,35]	0,36* [0,30; 0,40]	0,44 [0,32; 0,46]	0,45 [0,31; 0,61]	0,0003

Продолжение Таблицы 15

Метаболит	Группа контроля (n=59)	Класс А Child-Pugh (n=16)	Класс В Child-Pugh (n=15)	Класс С Child-Pugh (n=8)	Значение Р
Бетаин	12,72 [8,25; 22,82]	12,53 □ [11,38; 22,12]	57,20* [31,47; 70,25]	51,37* [40,87; 58,63]	< 0,0001
Карнозин	1,48 [0,90; 2,24]	1,44 [0,83; 2,08]	0,59 [0,39; 1,12]	0,53* [0,26; 0,80]	0,0005
Глутаминовая кислота	344,52 [241,93; 467,24]	739,92* [649,59; 1 181,27]	741,02 [318,00; 1 029,74]	452,80* [339,02; 612,19]	0,0001
Глутамин	164,94 [128,88; 199,85]	97,73* [18,19; 129,98]	161,12 [69,17; 203,33]	125,68 [113,25; 135,73]	0,0026
Гидроксипролин	7,51 [5,81; 11,34]	9,01 [6,65; 12,16]	14,68* [8,89; 20,05]	15,75* [12,86; 19,42]	< 0,0001
Лейцин	129,96 [110,99; 157,91]	156,22 □■ [112,01; 191,99]	94,57* [81,78; 107,20]	85,80* [69,36; 87,99]	< 0,0001
Лизин	279,30 [256,09; 296,94]	271,06 [231,92; 304,17]	244,81 [235,07; 254,12]	214,99* [181,12; 242,08]	0,0004
Метионин	21,09 [14,62; 25,92]	22,32 [19,55; 30,21]	41,41* [32,57; 55,55]	38,26* [32,74; 44,70]	< 0,0001
Валин	199,52 [173,56; 227,67]	204,49 □■ [166,21; 257,91]	134,18* [116,74; 143,80]	107,44* [90,60; 122,87]	< 0,0001
Ацилкарнитины					
Пальмитоилкарнитин (C16)	0,08 [0,07; 0,09]	0,09 [0,06; 0,12]	0,12* [0,10; 0,13]	0,10 [0,08; 0,16]	0,0014
Пальмитолеилкарнитин (C16-1)	0,01 [0,01; 0,01]	0,01 [0,01; 0,02]	0,02* [0,01; 0,03]	0,02* [0,02; 0,03]	< 0,0001
Олеoilкарнитин (C18-1)	0,06 [0,04; 0,07]	0,08 [0,06; 0,09]	0,09* [0,07; 0,12]	0,10 [0,07; 0,12]	< 0,0001
Витамины группы В					
Рибофлавин	0,09 [0,07; 0,10]	0,05** [0,04; 0,06]	0,07 [0,05; 0,09]	0,06 [0,06; 0,09]	0,005
Метаболиты катехоламинов					
Эпинефрин	0,82 [0,62; 0,97]	0,89 [0,70; 1,22]	1,14* [0,97; 1,61]	1,45* [1,31; 1,66]	< 0,0001
Фенилаланин	65,26 [58,63; 80,61]	90,25** [80,51; 101,03]	82,04 [64,36; 86,94]	78,17 [71,46; 93,26]	0,004

Продолжение Таблицы 15

Тирозин	69,05 [56,49; 83,23]	86,74 [70,37; 100,51]	119,68* [98,15; 148,81]	135,62* [92,98; 164,77]	< 0,0001
Примечание: * $p < 0,001$, ** $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля ◇ $p < 0,001$, ◇◇ $p < 0,05$ в сравнении с классом А по Child-Pugh □ $p < 0,001$, □□ $p < 0,05$ в сравнении с классом В по Child-Pugh ■ $p < 0,001$, ■■ $p < 0,05$ в сравнении с классом С по Child-Pugh					

Нами были выявлены следующие статистически значимые различия между подгруппами пациентов.

Статистически значимые отличия выявлены в уровне серотонина у пациентов с ЦП (Диаграмма 4). Отмечено снижение его содержания у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh по сравнению с группой контроля ($p < 0,0001$). При последующем анализе уровня метаболитов серотонинового пути, была отмечена тенденция к постепенному снижению 5-гидрокситриптофана и 5-метокситриптамина, однако статистической значимости обнаружено не было (Диаграммы 5 и 6).

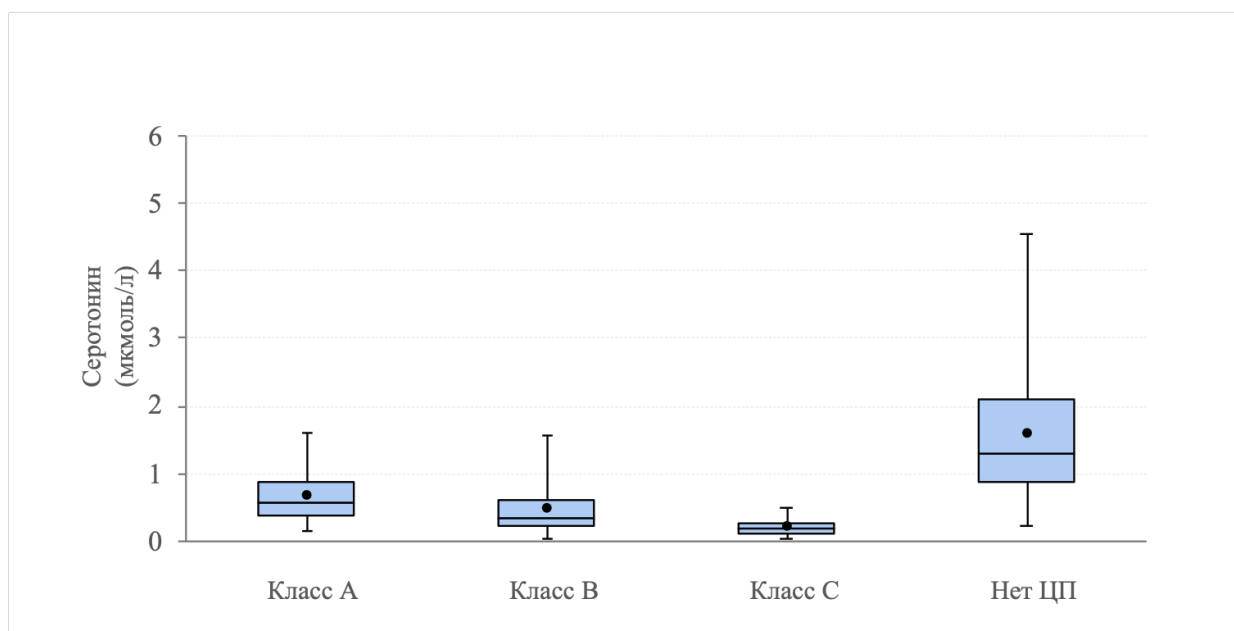


Диаграмма 4 – Уровень серотонина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

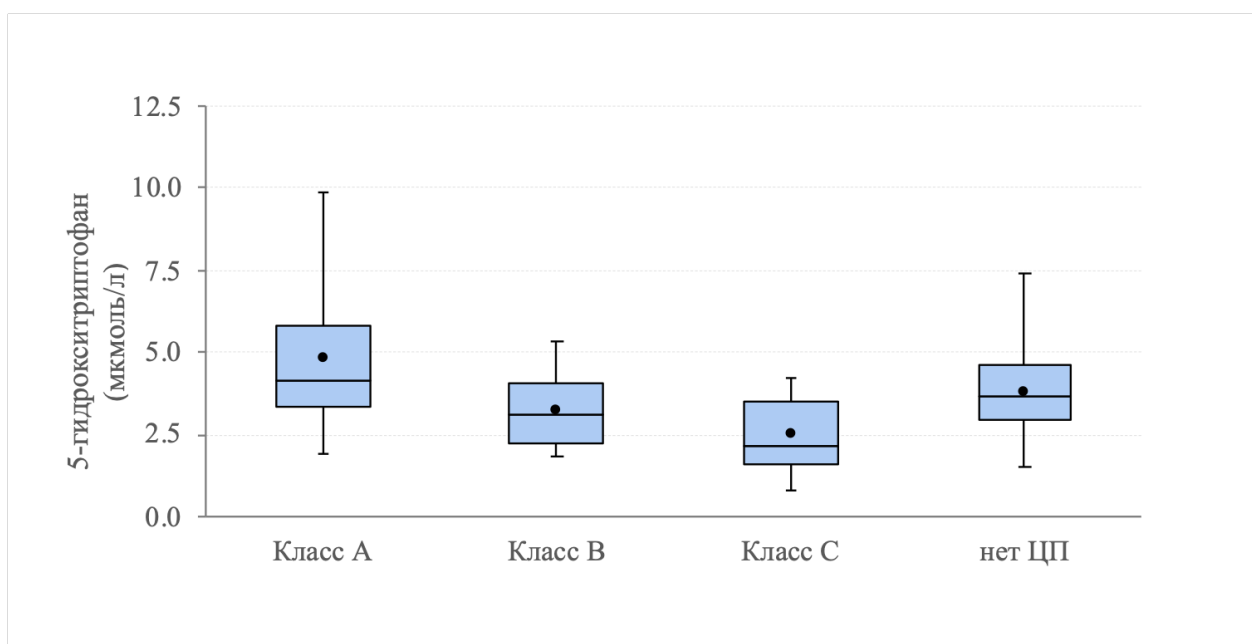


Диаграмма 5 – Уровень 5-гидрокситриптофана у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

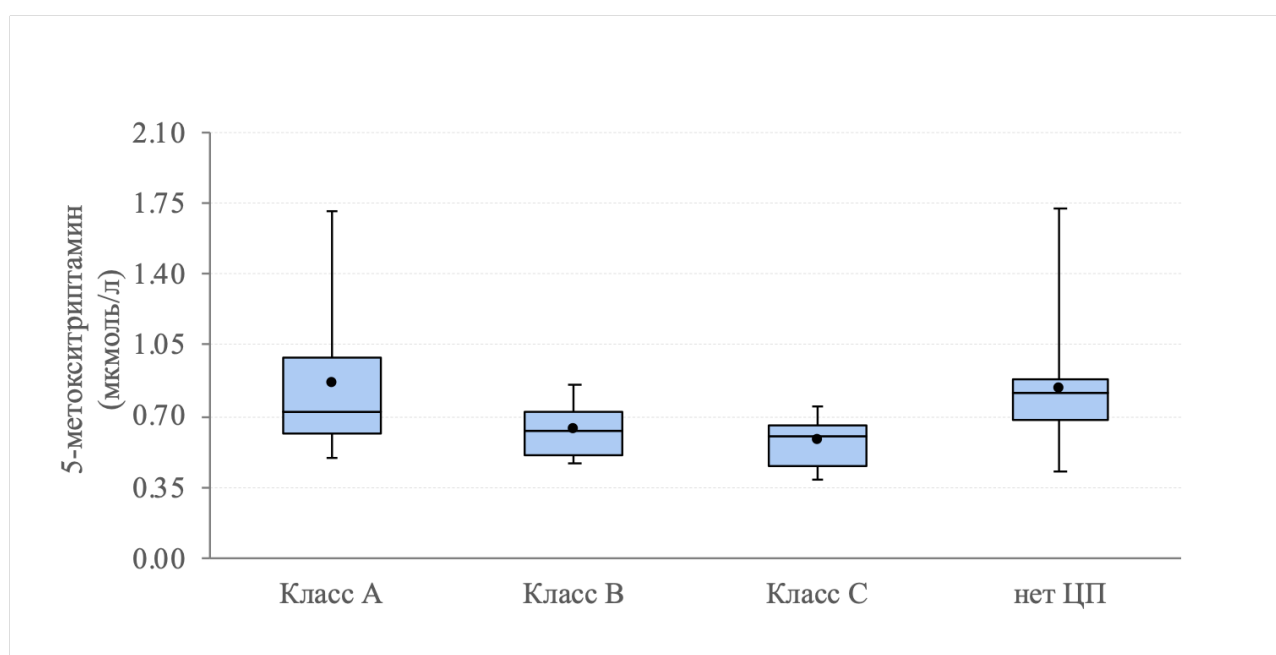


Диаграмма 6 – Уровень 5-метокситриптамина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

При детальном анализе уровня асимметричного диметиларгинина отмечена тенденция к повышению уровня метаболита у пациентов с ЦП в сравнении с группой без цирроза печени с постепенным нарастанием концентрации метаболита по мере прогрессирования заболевания, статистически значимо зафиксировано различие между классом В и группой контроля ($p = 0,0003$) (Диаграмма 7).

В отношении уровня общего диметиларгинина была отмечена схожая тенденция, однако статистически значимых различий в концентрации метаболита не было выявлено (Диаграмма 8).

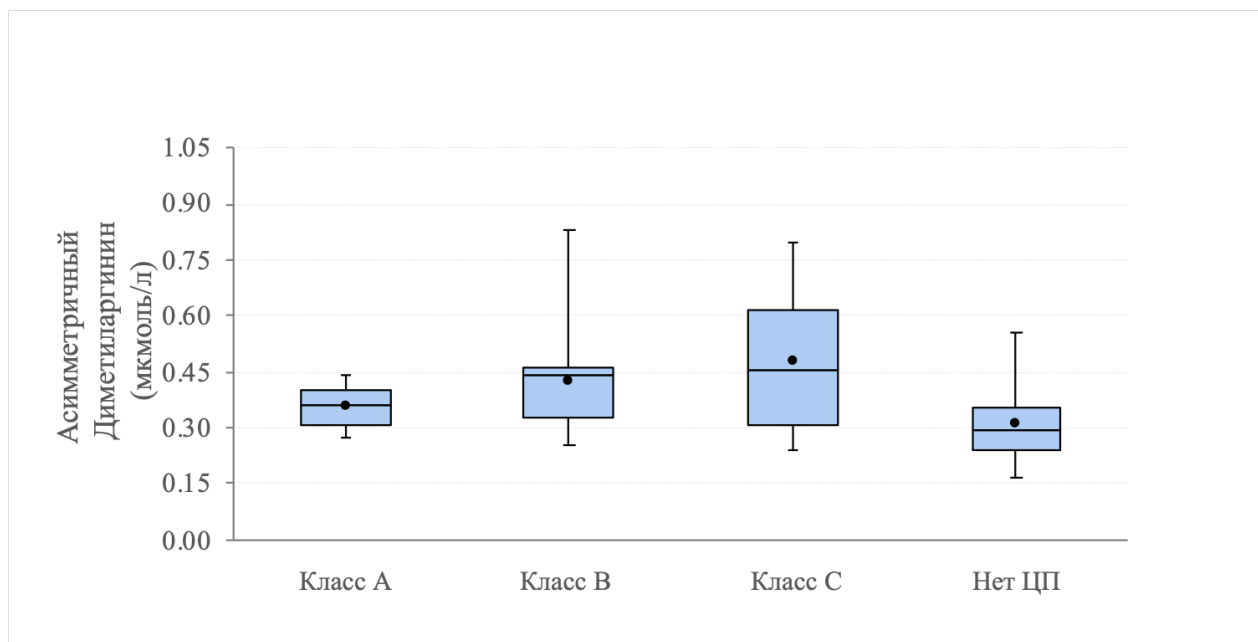


Диаграмма 7 – Уровень асимметричного диметиларгинина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

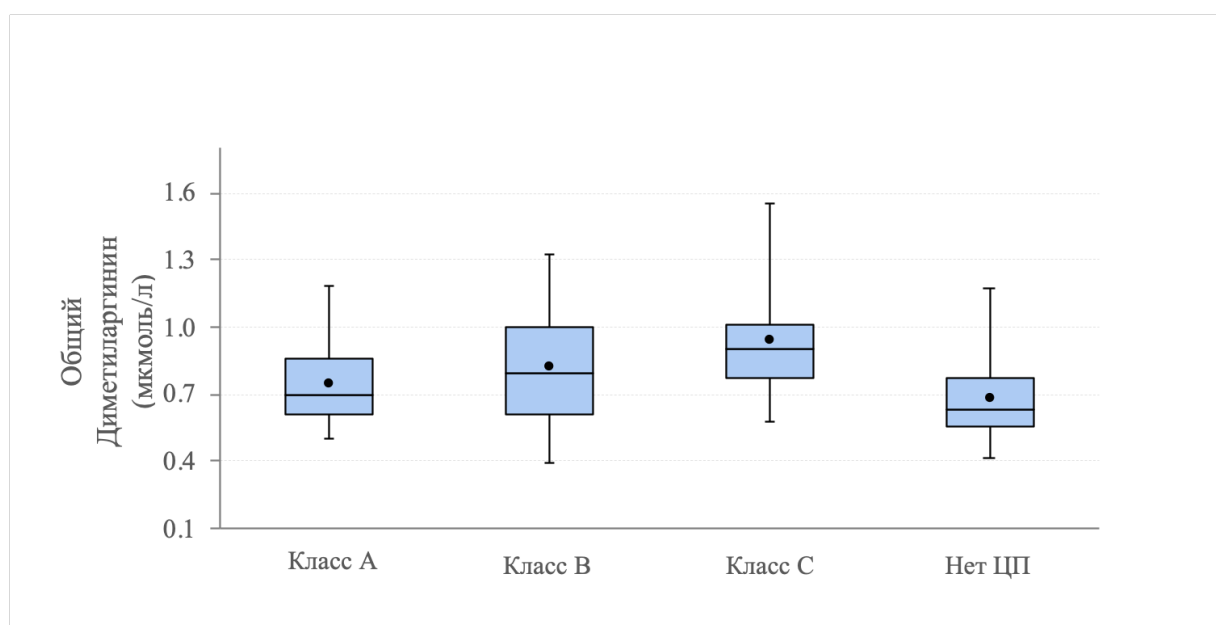


Диаграмма 8 – Уровень общего диметиларгинина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Уровень бетаина статистически значимо отличал группу контроля от класса В и С ($p < 0,0001$) (Диаграмма 9). Было отмечена тенденция к постепенному нарастанию уровня данного метаболита при прогрессировании ЦП, при этом статистически значимо различался класс А и В.

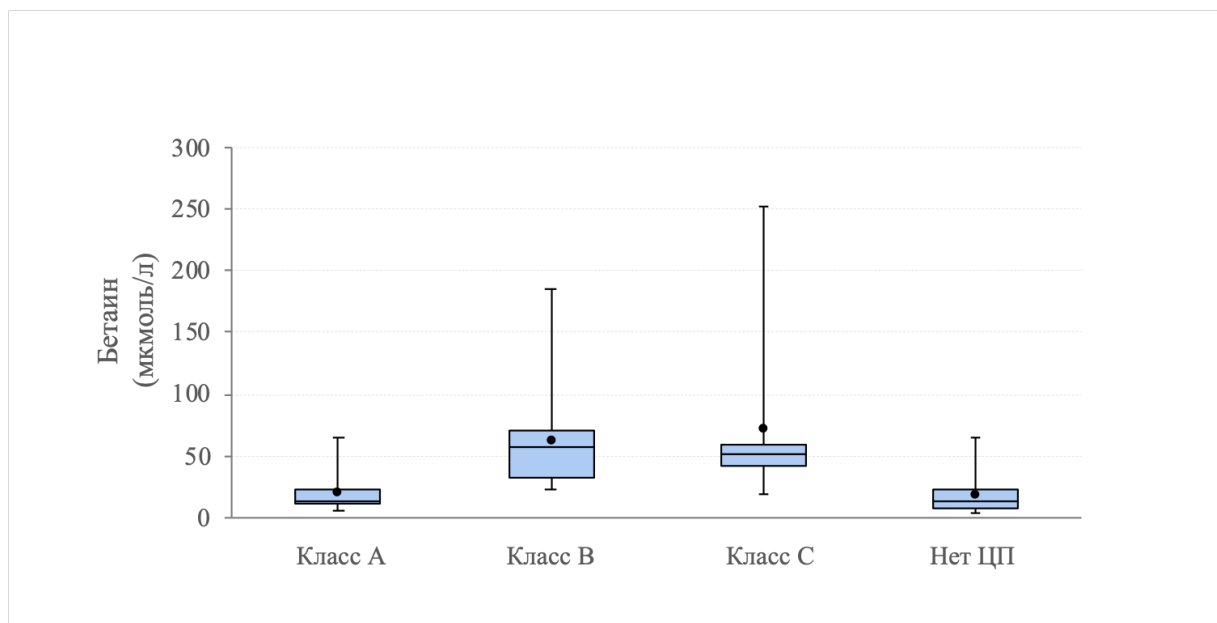


Диаграмма 9 – Уровень бетаина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Уровень карнозина статистически значимо был снижен у пациентов с классом С в сравнении с группой контроля ($p = 0,0005$) (Диаграмма 10). При этом, по мере развития заболевания отмечалась тенденция к снижению уровня метаболита. Схожая тенденция наблюдалась при анализе уровня таурина, но статистически значимых различий в подгруппах установить не удалось (Диаграмма 11).

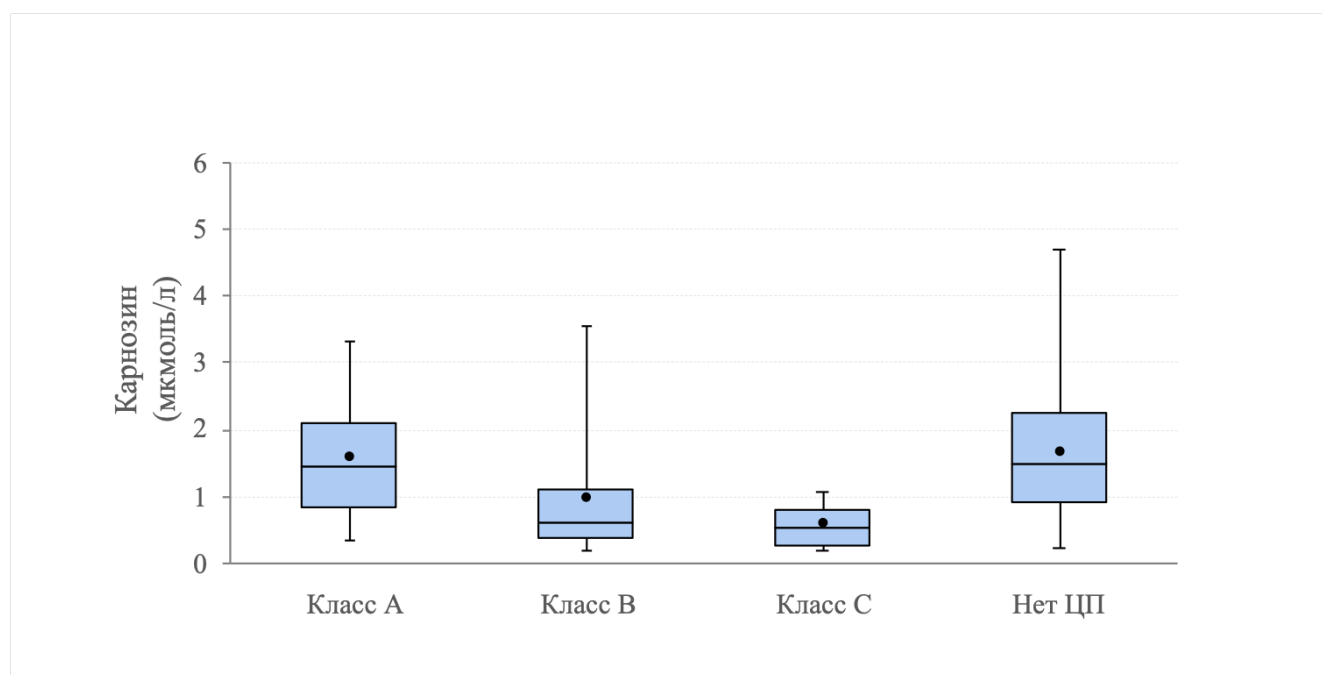


Диаграмма 10 – Уровень карнозина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

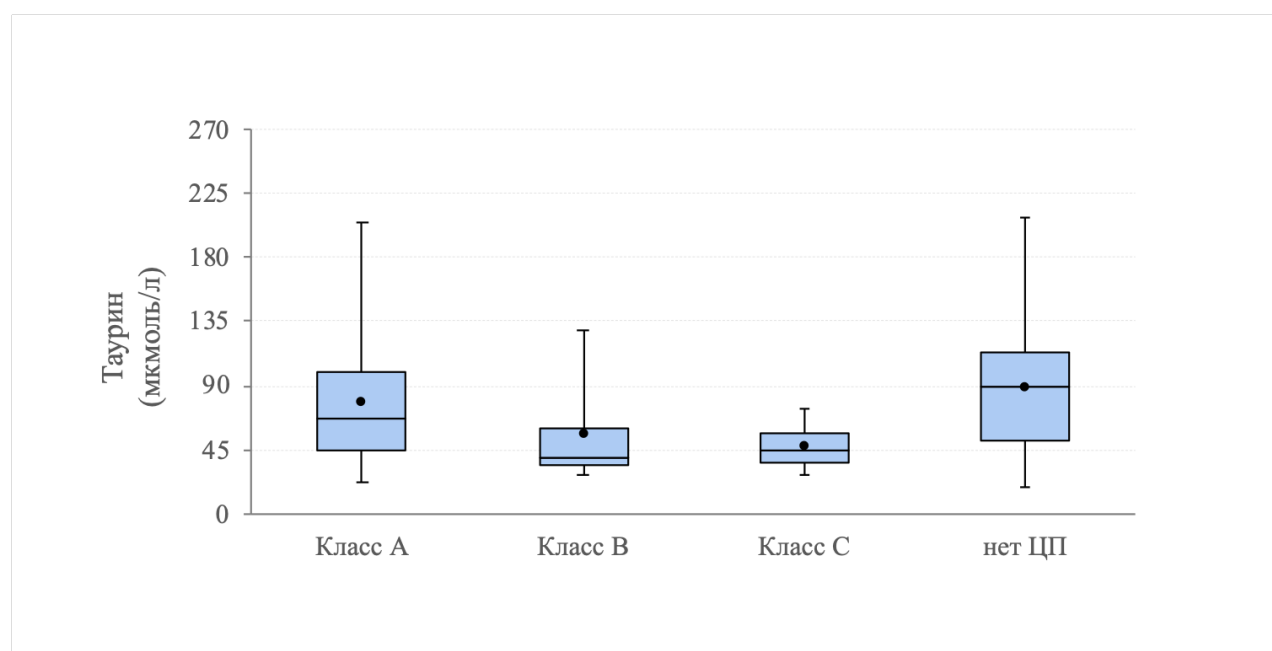


Диаграмма 11 – Уровень таурина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Выявлены различные уровни глутаминовой кислоты и его предшественника глутамина. Уровень глутаминовой кислоты значительно повышался на фоне развития цирроза печени ($p = 0,0001$), но в последующем была отмечена тенденция к снижению концентрации аминокислоты (Диаграмма 12). Уровень глутамина

статистически значимо снижался у пациентов с ЦП на начальных этапах заболевания ($p = 0,0026$), однако в последующем, при прогрессировании, отмечена тенденция к постепенному росту концентрации данного метаболита (Диаграмма 13). Между классом В и С не выявлено отличий в уровне глутамина и глутаминовой кислоты.

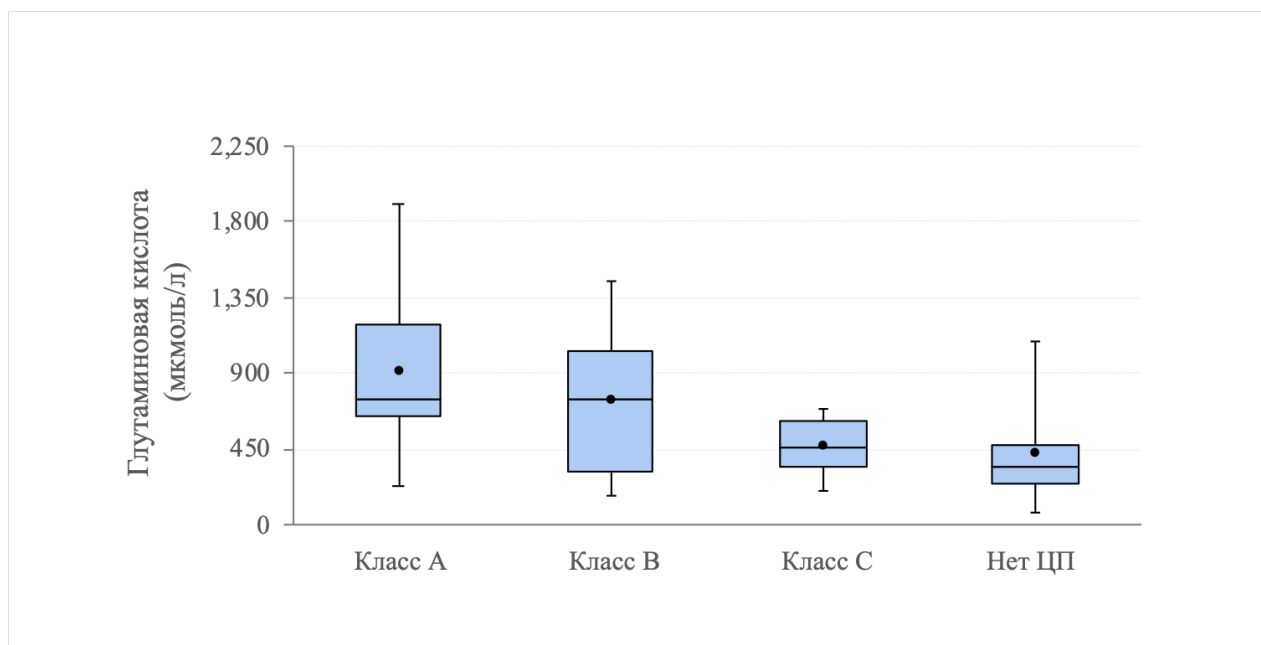


Диаграмма 12 – Уровень глутаминовой кислоты у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

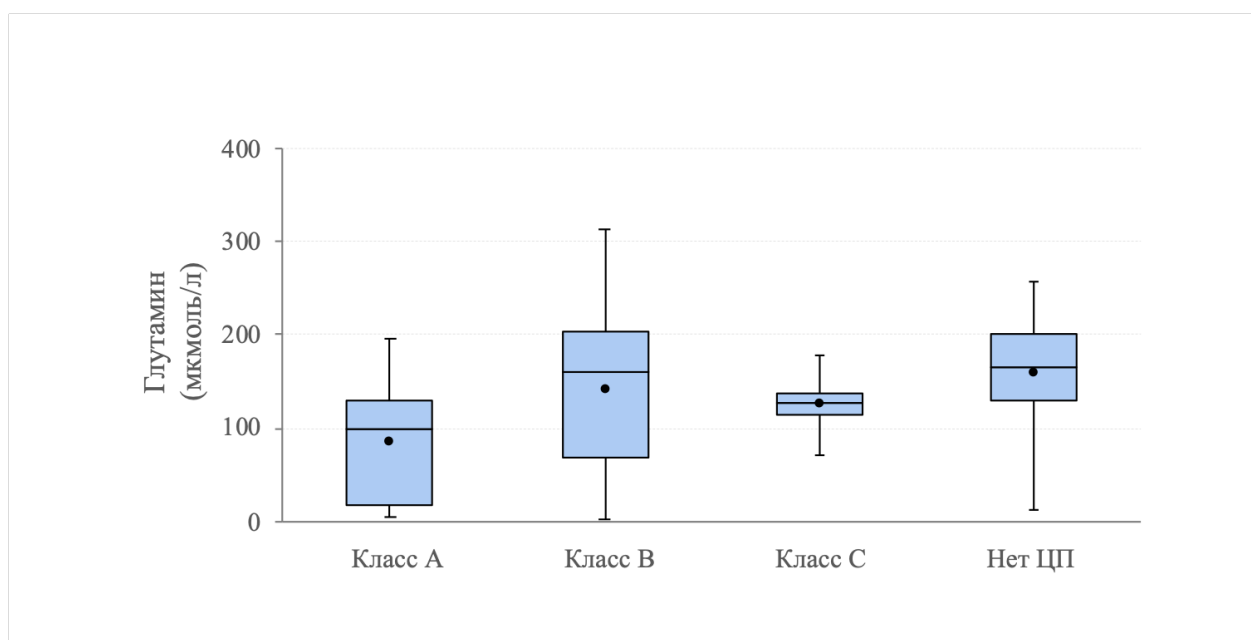


Диаграмма 13 – Уровень глутамина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Уровень гидроксипролина постепенно повышался на фоне прогрессирования заболевания и статистически значимо различался между группой контроля и пациентами с классами ЦП В и С ($p < 0,0001$) (Диаграмма 14).

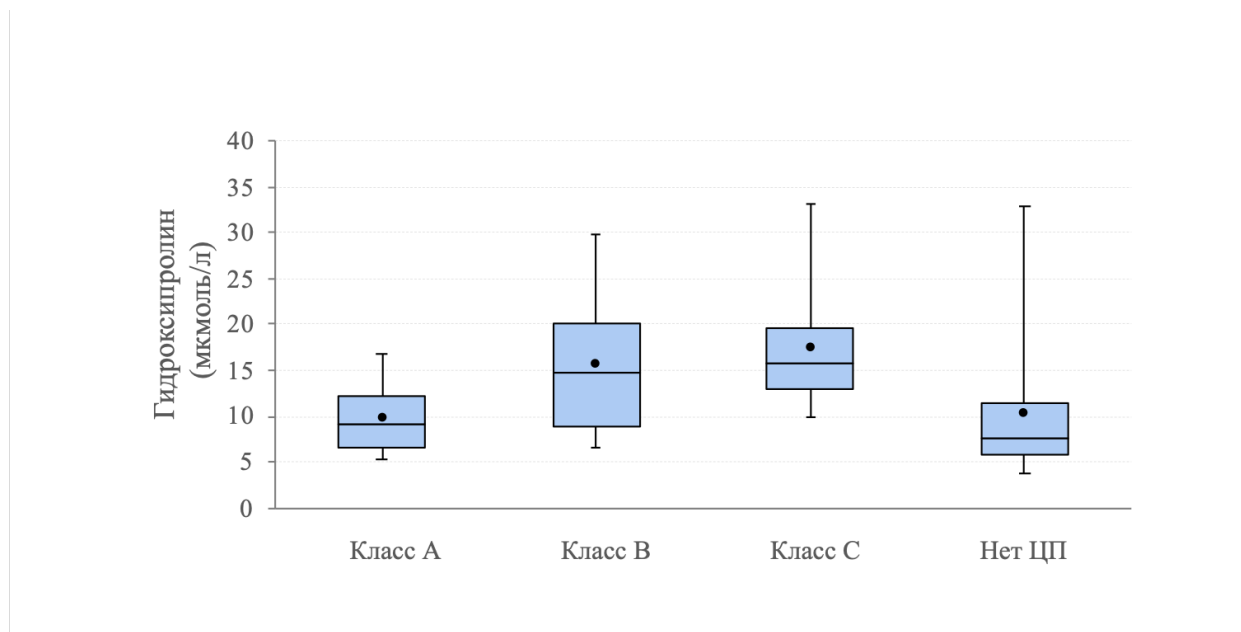


Диаграмма 14 – Уровень гидроксипролина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Уровень незаменимой кислоты лейцина статистически значимо снижался по мере прогрессирования ЦП, ее уровень различался внутри классов А, В и С, а также между группой контроля и классом С ($p < 0,0001$) (Диаграмма 15). Схожая тенденция наблюдалась в отношении уровня лизина, однако статистические отличия были выявлены только в отношении группы контроля и класса С (Диаграмма 16).

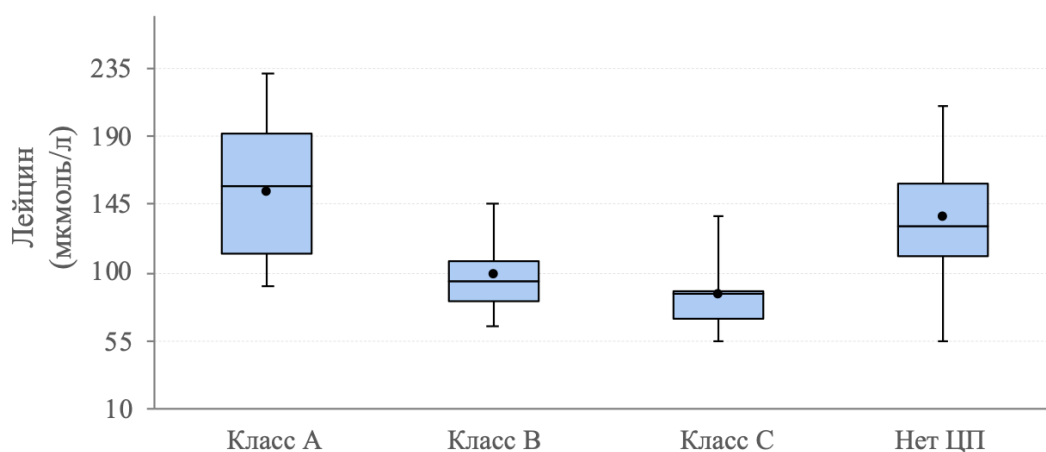


Диаграмма 15 – Уровень лейцина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

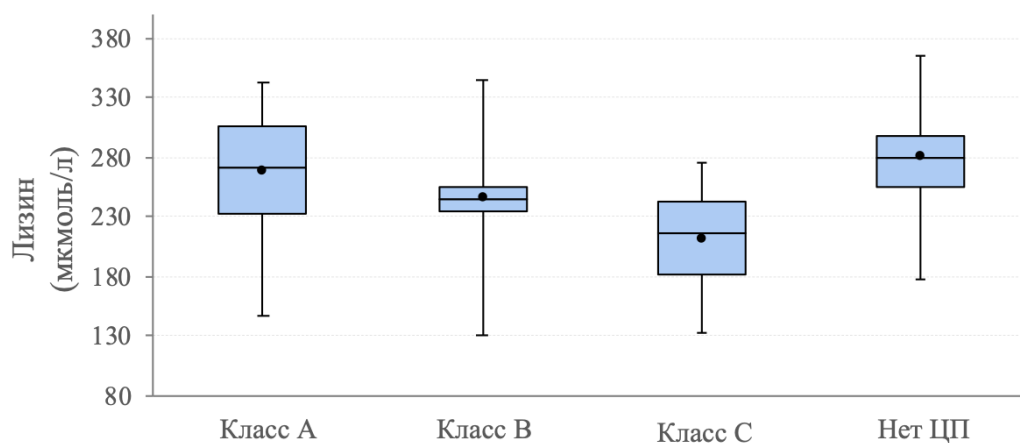


Диаграмма 16 – Уровень лизина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Нами выявлена тенденция к постепенному нарастанию уровня метионина – статистически значимо от группы контроля отличались классы В и С ($p < 0,0001$) (Диаграмма 17).

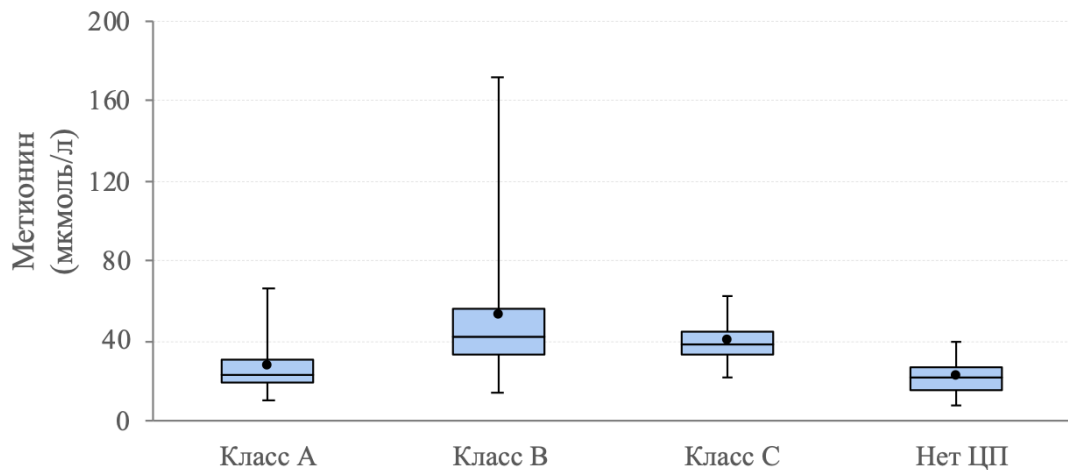


Диаграмма 17 – Уровень метионина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

При прогрессировании цирроза печени зафиксировано снижение уровня валина (А/В и А/С) ($p < 0,0001$) (Диаграмма 18). Установлены статистически значимые различия в уровне этого метаболита между группой контроля и классами В и С.

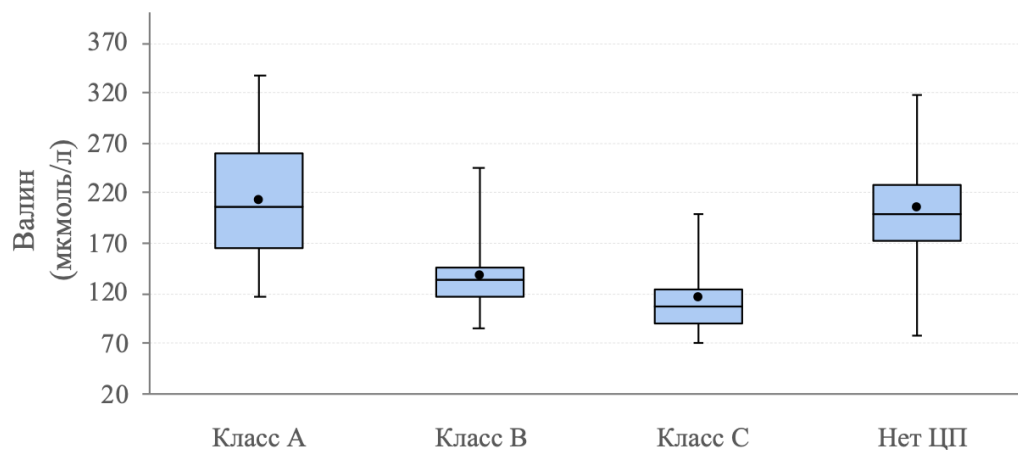


Диаграмма 18 – Уровень валина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

И хотя нами не была установлена статистическая значимость в различиях концентрации аспарагиновой кислоты и серина, отмечалась тенденция к резкому повышению концентрации этих метаболитов у пациентов с компенсированным ЦП в сравнении с группой контроля с последующим снижением метаболита сыворотки (Диаграммы 19 и 20).

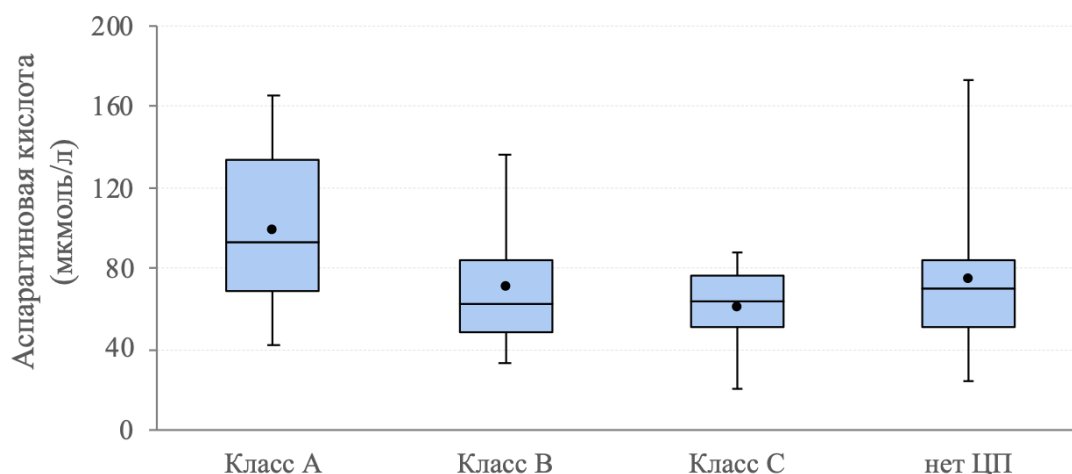


Диаграмма 19 – Уровень аспарагиновой кислоты у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

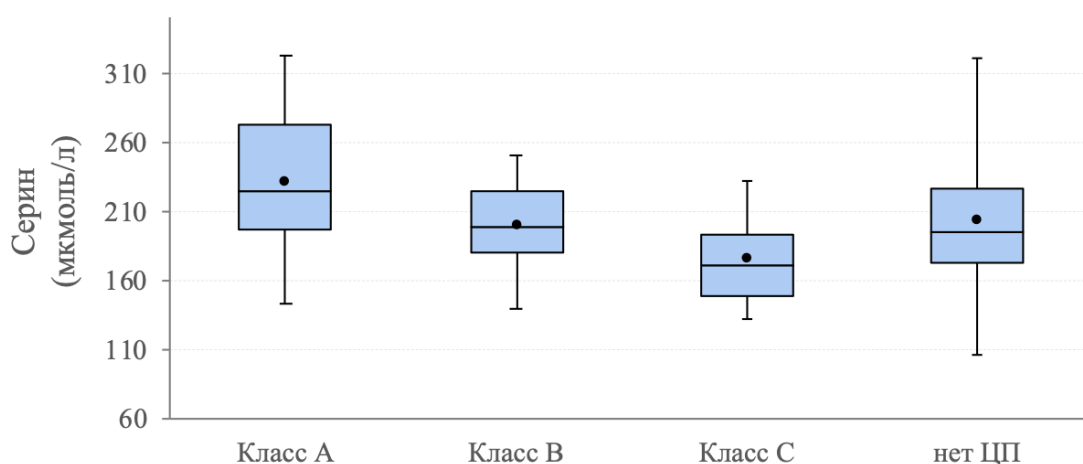


Диаграмма 20 – Уровень серина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Нами отмечено значимое снижение уровня рибофлавина в сыворотке крови пациентов с ЦП ($p = 0,005$) и постепенное повышение содержания данного метаболита по мере прогрессирования заболевания. Однако, выявленные нами изменения концентрации мы рассматриваем в рамках проводимой инфузионной терапии пациентам с циррозом печени.

Было отмечено постепенно повышение концентрации длинноцепочечных ацилкарнитинов C16 ($p = 0,0014$), C16-1 ($p < 0,0001$), C18-1 ($p < 0,0001$) на фоне прогрессирования заболевания, статистически значимые различия выявлены между классом В и группой контроля, уровень пальмитолеилкарнитина (C16-1) также был повышен у пациентов с классом С в сравнении с группой контроля (Диаграммы 21, 22 и 23).

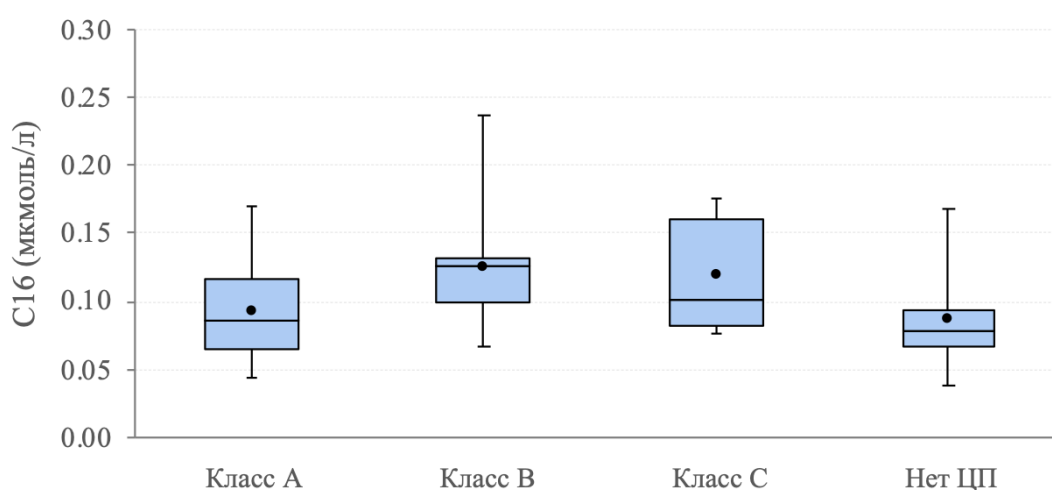


Диаграмма 21 – Уровень пальмитоилкарнитина (C16) у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

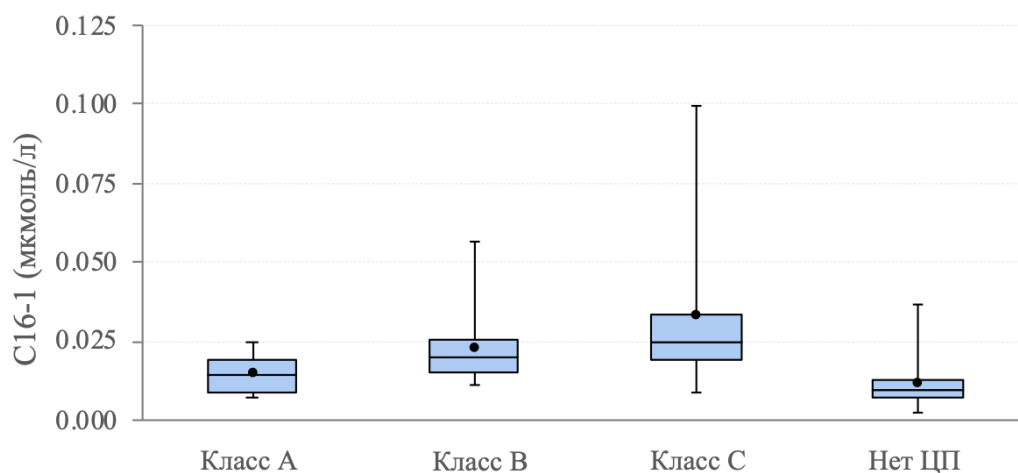


Диаграмма 22 – Уровень пальмитолеилкарнитина (C16-1) у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

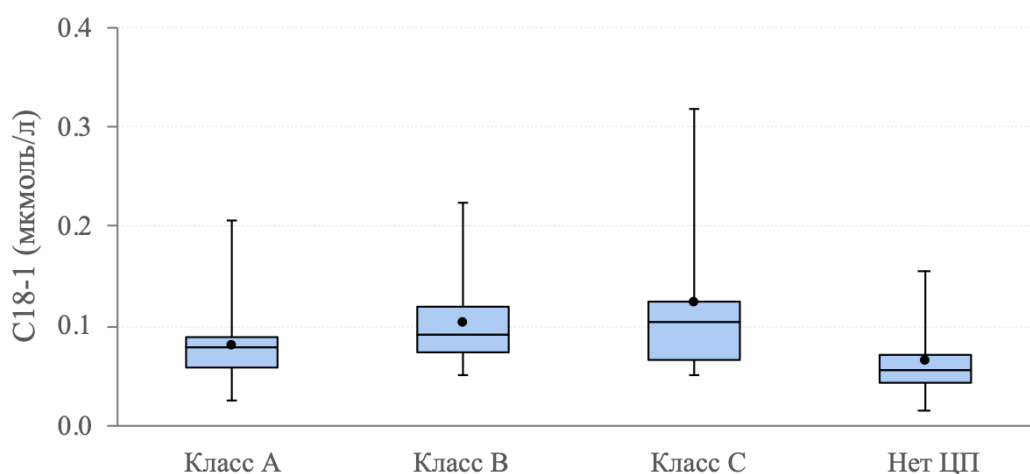


Диаграмма 23 – Уровень олеoilкарнитин (C18-1) у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Концентрация незаменимой аминокислоты фенилаланина, участвующей в метаболизме катехоламинов, статистически значимо возросла при переходе заболевания к классу А цирроза печени ($p = 0,004$) (Диаграмма 24). В последующем отмечалась тенденция к некоторому снижению уровня метаболита.

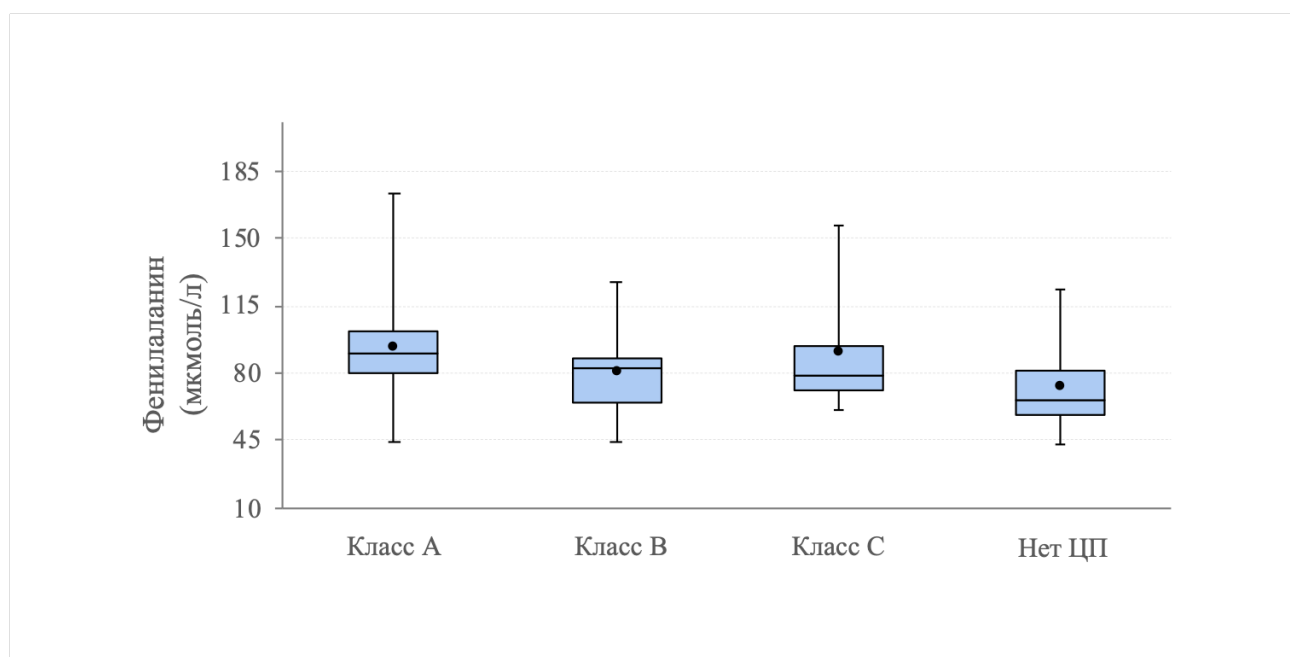


Диаграмма 24 – Уровень фенилаланина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

В отношении уровня тирозина наблюдалась обратная картина – постепенное увеличение концентрации по мере прогрессирования цирроза. Статистически значимо различались между собой группа контроля и классы ЦП В и С ($p < 0,0001$) (Диаграмма 25).

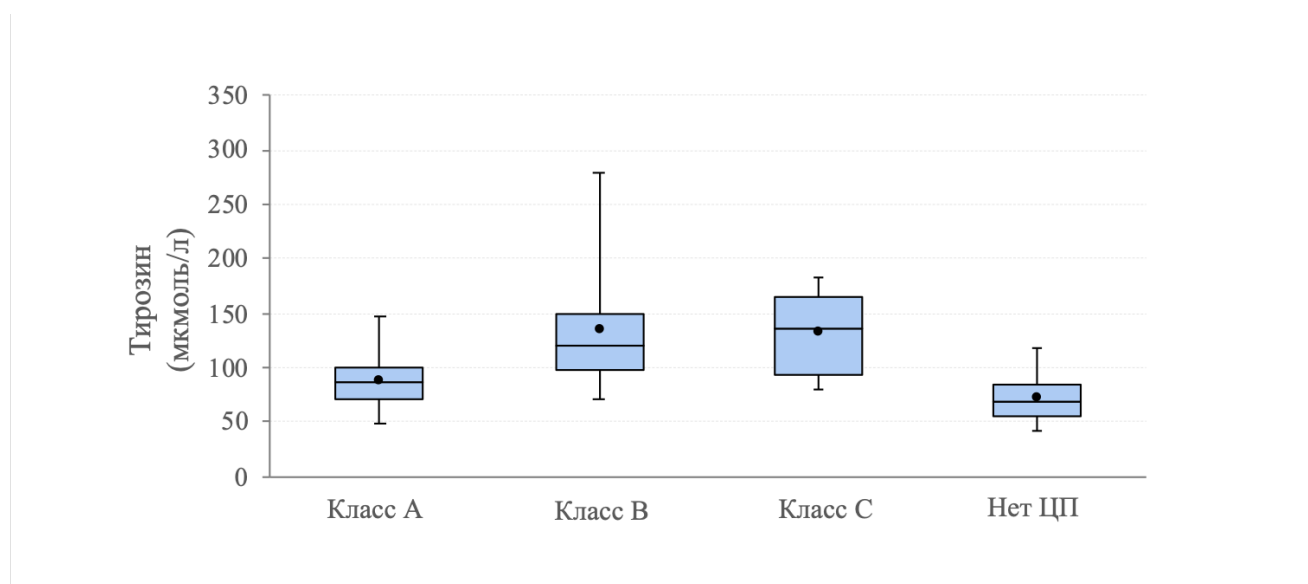


Диаграмма 25 – Уровень тирозина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Уровни эпинефрина и метанефрина имели тенденцию к повышению у пациентов с ЦП. Статистически значимо различался уровень эпинефрина между группой контроля и классами В и С ($p < 0,0001$) (Диаграмма 26). При анализе уровня метанефрина, наблюдалась обратная тенденция к снижению уровня метаболита по мере прогрессирования заболевания, однако статистической значимости между подгруппами пациентов установлено не было (Диаграмма 27).

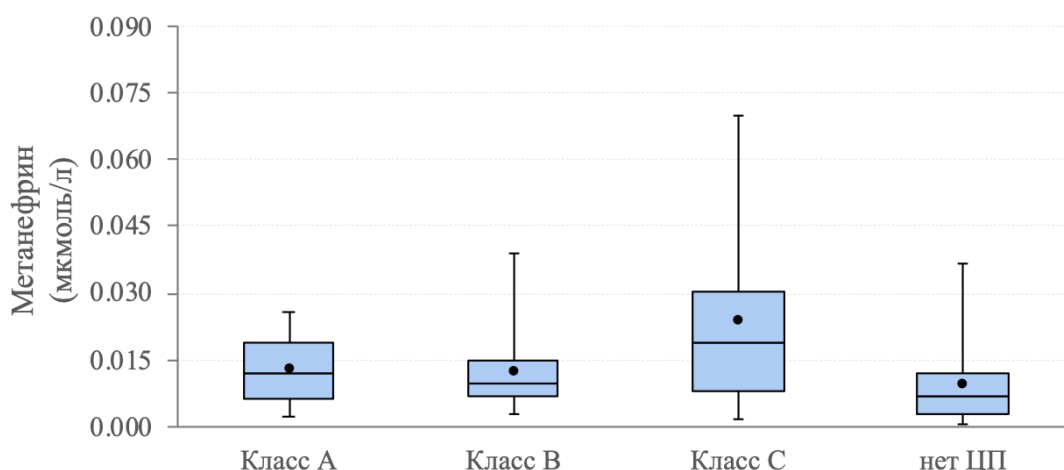


Диаграмма 27 – Уровень метанефрина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

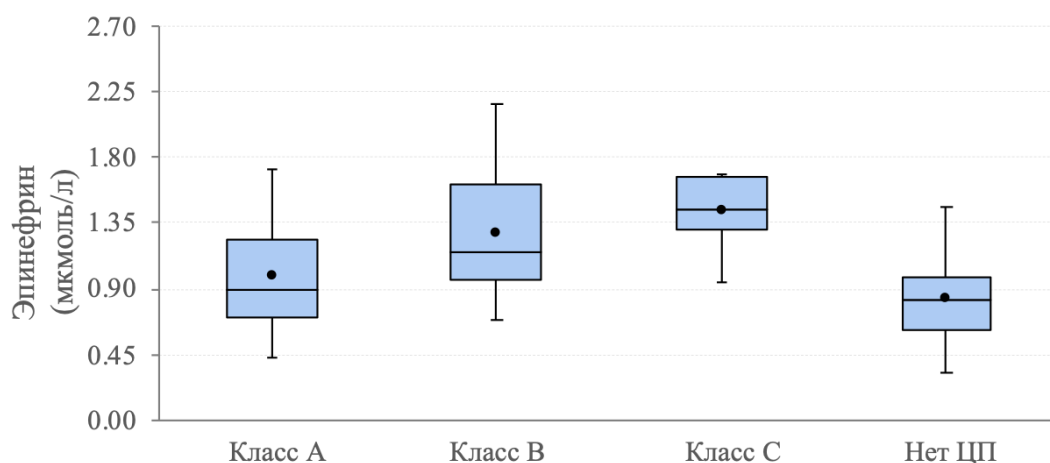


Диаграмма 26 – Уровень эпинефрина у пациентов с различным классом ЦП по шкале Child-Pugh

Уровень ацетилхолина имел тенденцию к снижению у пациентов с компенсированным ЦП с последующим постепенным увеличением концентрации, близком к уровню метаболита в группе контроля. Нами не было установлено статистически значимого различия в уровне креатинина между разными стадиями ЦП, однако наблюдалась тенденция к снижению содержания этого метаболита по мере прогрессирования заболевания.

Выявленные метаболомные факторы статистически значимо различались в группах пациентов с установленным диагнозом «цирроз печени» и без него (Таблица 16).

Таблица 16 – Различия метаболомного профиля пациентов с установленным диагнозом «цирроз печени» и без него

Метаболомные факторы	Цирроз печени (n=39) Me [LQ; UQ]	Без цирроза печени (n=59) Me [LQ; UQ]	Значение p
I	0,13 [-0,20; 0,42]	-0,23 [-0,43; -0,01]	0,003
II	-0,07 [-0,47; 0,51]	-0,26 [-0,63; 0,17]	0,351
III	-0,06 [-0,55; 0,35]	-0,16 [-0,48; 0,32]	0,588
IV	-0,47 [-1,02; 0,24]	0,31 [-0,31; 0,81]	0,0002
V	-0,02 [-0,15; 0,14]	-0,19 [-0,30; -0,05]	0,002
VI	0,50 [-0,15; 1,22]	-0,42 [-0,67; -0,19]	< 0,0001

В сравнении с пациентами без цирроза, на фоне прогрессирования заболевания различной этиологии (АБП и НАЖБП) было отмечено повышение метаболической активности внутри метаболомного фактора I ($p = 0,003$), V ($p = 0,002$) и VI ($p < 0,001$) с тенденцией к повышению концентрации метаболитов, а в отношении метаболомного фактора IV ($p < 0,001$) статистически значимо наблюдалась тенденция к снижению метаболической активности (Диаграммы 28, 29, 30 и 31).

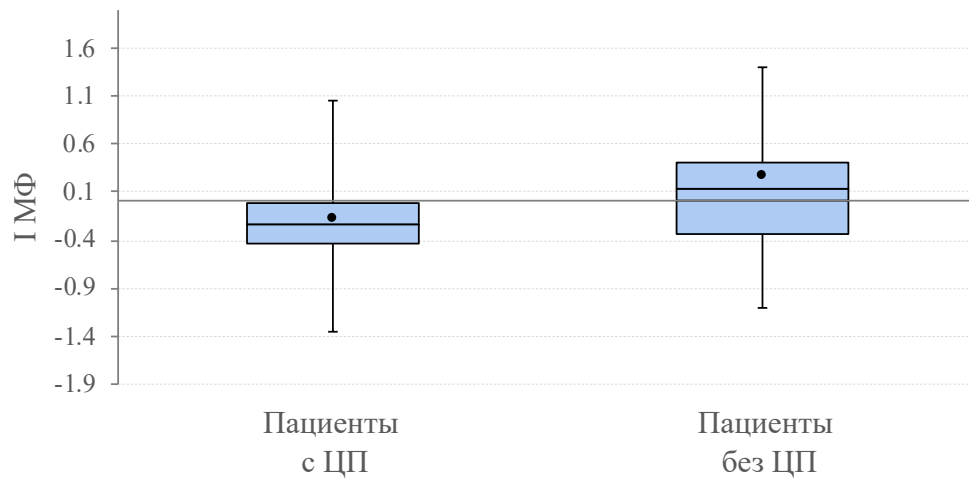


Диаграмма 28 – Различие I метаболомного фактора у пациентов с установленным диагнозом «цирроз печени» и без него

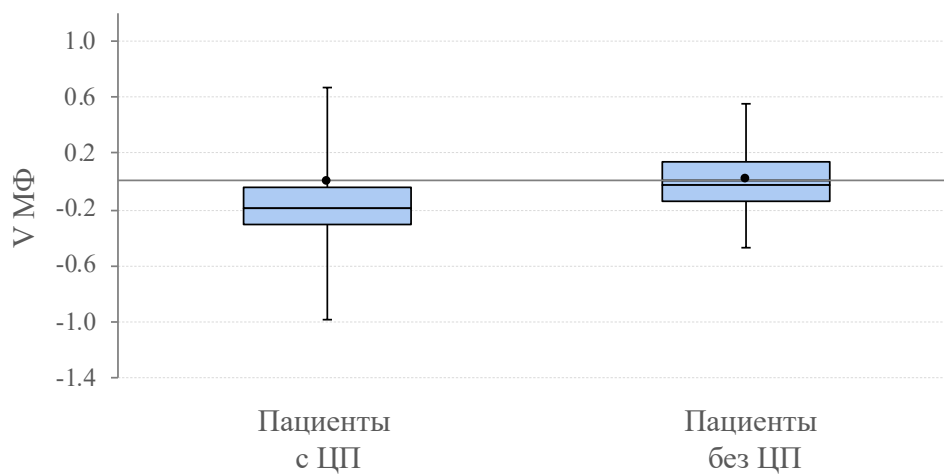


Диаграмма 29 – Различие V метаболомного фактора у пациентов с установленным диагнозом «цирроз печени» и без него

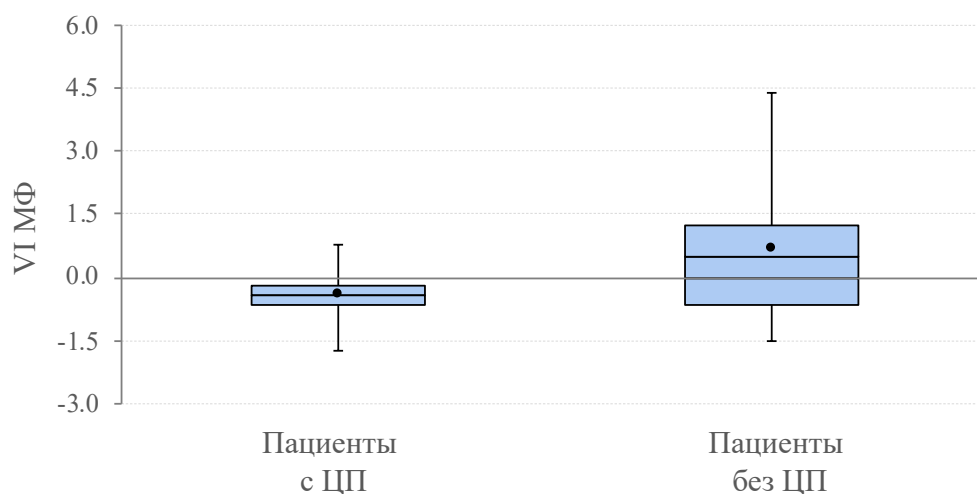


Диаграмма 30 – Различие VI метаболомного фактора у пациентов с установленным диагнозом «цирроз печени» и без него

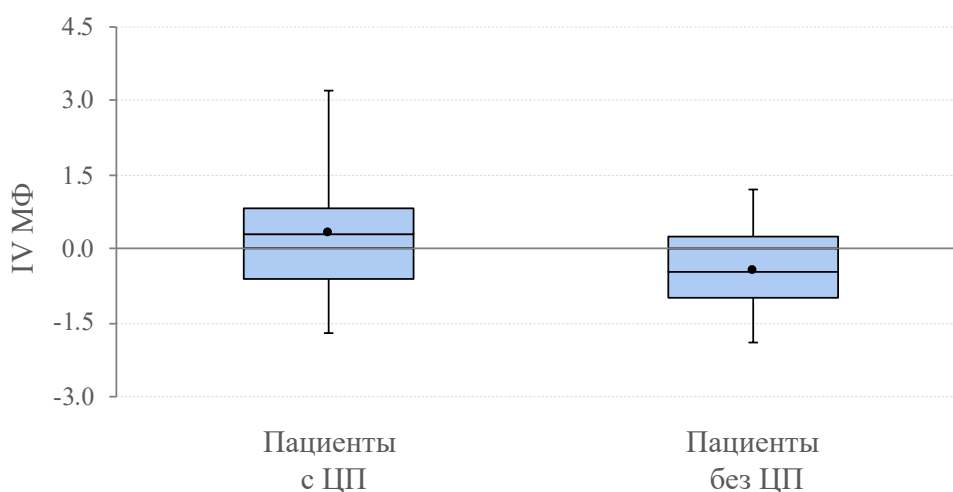


Диаграмма 31 – Различие IV метаболомного фактора у пациентов с установленным диагнозом «цирроз печени» и без него

Выявленные нами изменения метаболомного профиля у пациентов статистически значимо ассоциированы с циррозом печени. Отношение шансов (ОШ) для I метаболомного фактора составило 2,565 (95% доверительный интервал (ДИ) (1,105 - 5,956) $p = 0,0284$), для IV метаболомного фактора ОШ = 0,366 (ДИ 0,212 - 0,632, $p = 0,0003$), и для VI метаболомного фактора ОШ = 11,580 (ДИ 4,070 - 32,948, $p < 0,0001$).

Далее, было логично оценить различия метаболома на фоне этиологического фактора ЦП. При анализе пациентов с циррозом печени различной этиологии нами были установлена статистически значимые различия только в отношении одного метаболомного фактора. У пациентов с циррозом печени в исходе НАЖБП в сравнении с пациентами с циррозом печени токсической этиологии отмечался повышенный уровень метаболитов II МФ ($p = 0,007$) (Таблица 17).

Таблица 17 – Различия метаболомного профиля пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени

Метабомные факторы	Цирроз печени в исходе АБП (n=31) Me [LQ; UQ]	Цирроз печени в исходе НАЖБП (n=8) Me [LQ; UQ]	Значение p
I	0,14 [-0,12; 0,45]	0,12 [-0,36; 0,16]	0,531
II	-0,16 [-0,72; 0,23]	0,54 [0,05; 1,27]	0,007
III	-0,12 [-0,46; 0,21]	0,38 [-0,55; 0,52]	0,347
IV	-0,66 [-1,15; 0,24]	-0,23 [-0,59; 0,20]	0,347
V	-0,03 [-0,18; 0,14]	-0,02 [-0,11; 0,10]	0,531
VI	0,72 [-0,15; 1,46]	0,18 [-0,11; 0,46]	0,125

На фоне НАЖБП наблюдалось повышение активности метаболических путей второго метаболомного фактора с увеличением концентрации метаболитов (Диаграмма 32).

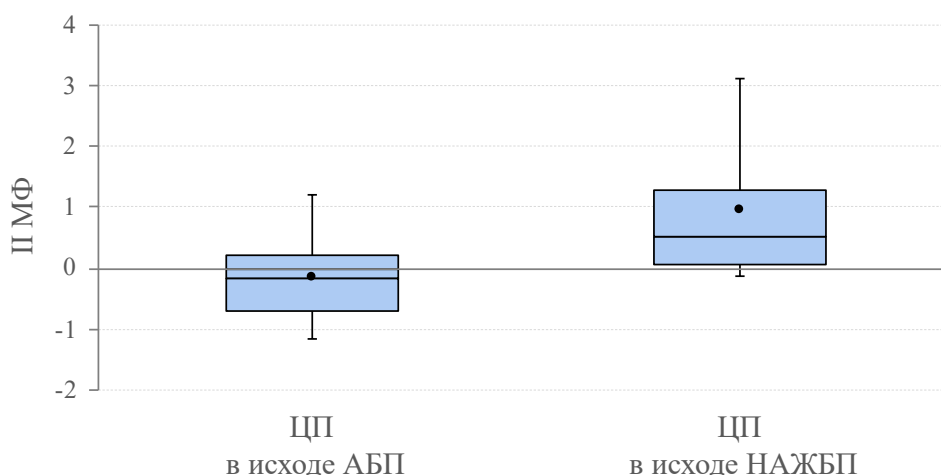


Диаграмма 32 – Различие II метаболомного фактора у пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени

Для исследования патофизиологических аспектов прогрессирования заболеваний нами был проведен сравнительный анализ различий метаболомного профиля у пациентов с циррозом печени на разных стадиях тяжести заболевания по классификации Child-Pugh в сравнении с группой без цирроза печени (Таблица 18).

Таблица 18 – Различия метаболомного профиля пациентов с циррозом печени на разных стадиях тяжести заболевания по классификации Child-Pugh в сравнении с группой без цирроза печени

Метаболомные факторы	Без цирроза печени (n=59)	Класс А Child-Pugh (n=16)	Класс В Child-Pugh (n=15)	Класс С Child-Pugh (n=8)	Значение p
I	-0,23 [-0,43; -0,01]	-0,05 [-0,69; 0,16]	0,19 [-0,02; 0,44]	0,30 [0,01; 0,73]	0,0059
II	-0,26 [-0,63; 0,17]	0,46 [-0,06; 0,93]	-0,14 [-0,51; 0,17]	-0,70 [-0,95; -0,36]	0,0023
III	-0,16 [-0,48; 0,32]	-0,12 [-0,55; 0,35]	-0,12 [-0,36; 0,16]	0,10 [-0,29; 0,59]	0,8017
IV	0,31 [-0,31; 0,81]	-0,23 [-0,66; 0,32]	-0,79 [-0,96; 0,03]	-0,99 [-1,70; -0,16]	0,0012
V	-0,19 [-0,30; -0,05]	-0,08 [-0,13; 0,10]	0,07 [-0,06; 0,17]	-0,11 [-0,21; -0,01]	0,0108
VI	-0,42 [-0,67; -0,19]	-0,11 [-0,42; 0,46]	0,76 [0,52; 1,71]	0,76 [0,29; 1,43]	< 0,0001

При анализе пациентов с циррозом печени были отмечены статистически значимые различия у пациентов с разной тяжестью цирроза печени по шкале Child-Pugh. Наблюдалась тенденция к снижению уровня метаболитов внутри метаболомного фактора II по мере прогрессирования заболевания. Цирроз печени класса А статистически значимо отличался по представленным показателям от класса С по шкале Child-Pugh ($p = 0,0047$) (Диаграмма 33).

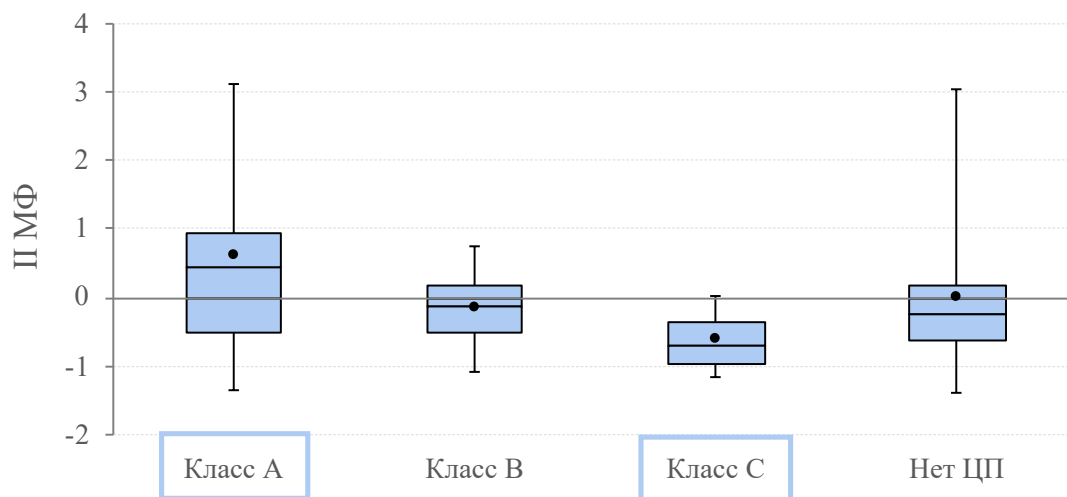


Диаграмма 33 – Различие метаболомного фактора II на фоне прогрессирования заболевания в сравнении с группой пациентов без ЦП

По мере прогрессирования заболевания наблюдалась тенденция к повышению метаболической активности внутри метаболомного фактора VI фенотипа. Статистически значимо уровень метаболитов отличал пациентов без цирроза и пациентов с циррозом печени класса В и С по шкале Child-Pugh ($p < 0,0001$) (Диаграмма 34).

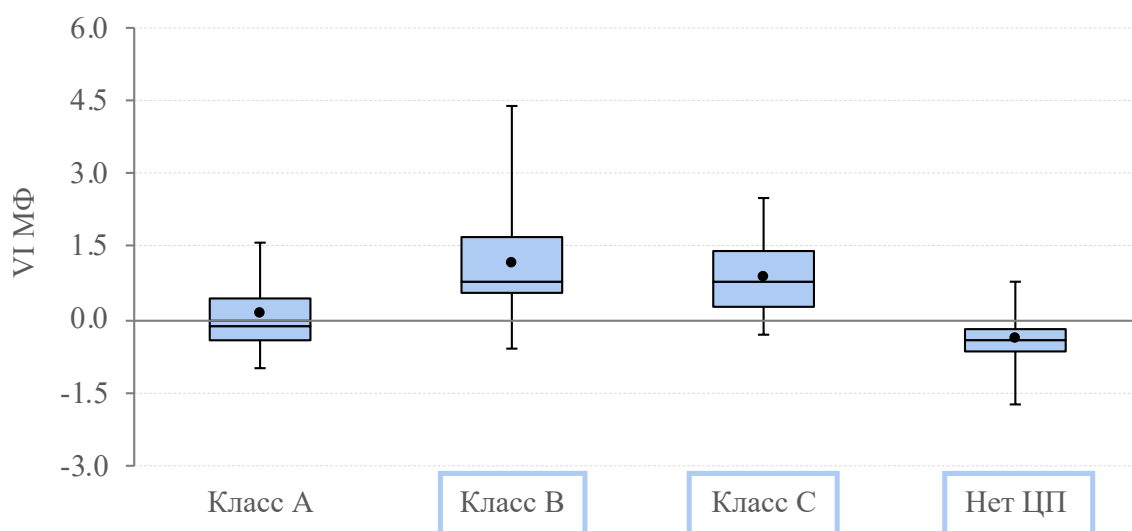


Диаграмма 34 – Различие метаболомного фактора VI на фоне прогрессирования заболевания в сравнении с группой пациентов без ЦП

Нами отмечена тенденция к разнонаправленным изменениям: нарастанию активности внутри метаболомного фактора I и снижению активности метаболомных путей IV. Однако, статистически значимых различий в подгруппах пациентов выявлено не было, что может быть обусловлено малой выборкой пациентов.

III метаболомный фактор, преимущественно отражающий метаболизм длинноцепочечных ацилкарнитинов, не выявил статистически значимых различий в зависимости от этиологии заболевания (АБП/НАЖБП) и наличия цирроза печени. Отсутствие значимых ассоциаций может быть связано с ограниченным объемом выборки в исследованных группах.

В ходе настоящего исследования проведена комплексная оценка изменений метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени. Полученные результаты позволили выделить характерные изменения метаболитов, идентифицировать ключевые метаболомные факторы и провести их сравнительный анализ в зависимости от этиологии заболевания печени и стадии его прогрессирования.

3.5. Клинические наблюдения

3.5.1. Клиническое наблюдение 1

Пациентка А., 59 лет, при поступлении в стационар предъявляла жалобы на увеличение в размерах живота, выраженную общую слабость, отеки ног, желтушность склер.

Из анамнеза известно, что в течение последних 10 лет пациентка употребляла алкоголь в гепатотоксических дозах. В 2020 г., пациентка впервые отметила пожелтение кожных покровов. Была госпитализирована по месту жительства, обследована, установлен диагноз: цирроз печени токсической этиологии. Проводилась дезинтоксикационная терапия с положительным эффектом. Была рекомендована терапия препаратами урсодезоксихолевой кислоты и соблюдение

строгой абстиненции. В последующем пациентка не придерживалась абстиненции, и в феврале 2022 г. отметила увеличение в объеме живота и вновь пожелтение склер и кожных покровов. В связи с выраженностью клинической картины госпитализирована в стационар для обследования и коррекции терапии.

Объективно: состояние средней тяжести. Сознание ясное. Заторможена, сонлива, на вопросы отвечает с задержкой. Рост 164 см, Вес (с асцитом) 73,6 кг. ИМТ (скорректированный) $\approx 23,7$ кг/м². Температура тела 36,6 градусов. Кожа: желтушной окраски, телеангиоэктазии. Видимые слизистые: иктеричные. Отеки голеней и стоп. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧДД – 19 в мин. SatO₂ – 99%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, ЧСС – 82 в мин. АД 110 и 70 мм рт. ст. Живот увеличен за счет напряженного асцита. Пальпация внутренних органов затруднена за счет асцита. При перкуссии размеры селезенки 12х5 см. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Стул регулярный, без патологических примесей. Тест связи чисел – 60 сек.

На основании жалоб, данных анамнеза заболевания и объективного осмотра пациентке был установлен предварительный диагноз: Цирроз печени токсической этиологии, класс С по Child – Pugh (14 баллов). Портальная гипертензия: напряженный асцит III степени, спленомегалия. Печеночная недостаточность: желтуха. Печеночная энцефалопатия 1-2 ст. Пациенткой было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

При обследовании:

В общем анализе крови: гемоглобин – 90 г/л, эритроциты – $3,12 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $5,3 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 148×10^9 /л, СОЭ – 4 мм/ч.

В биохимическом анализе крови: натрий – 135 ммоль/л; калий – 4,2 ммоль/л, аланиновая аминотрансфераза – 451 ед/л; аспарагиновая аминотрансфераза – 706 ед/л; гаммаглутамилтранспептидаза – 193 ед/л; щелочная фосфатаза – 376 ед/л; общий белок – 69 г/л; альбумин – 24 г/л; глюкоза – 5,2 мг/л; креатинин – 76 мкмоль/л; билирубин общий – 328 мкмоль/л; прямой билирубин – 170 мкмоль/л; С-реактивный белок: 11 мг/л.

В коагулограмме: процент протромбина по Квику – 43%; активированное частичное тромбопластиновое время, отношение – 1,4; МНО – 1,92; Протромбиновое время – 21,3 сек; Тромбиновое время – 40,1 сек; Фибриноген – 0,97 г/л; Уровень онкомаркеров в норме.

Анализ мочи без особенностей.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости:

Печень: контуры четкие, неровные, бугристые. Размер левой доли увеличен, 68 x 107 мм (по средней линии живота, ПЗР x ВНР, норма до 60 x 100 мм). Правая доля уменьшена, 105 x 152 мм (ПЗР x ВНР, по среднеключичной линии, норма до 125 x 145 мм). Эхогенность умеренно повышенная. Эхоструктура диффузно-неоднородная. Сосудистый рисунок: количество визуализируемых сосудов снижено, ход их деформирован. Печеночные вены несколько сужены, диаметром 5-6 мм. При УЗДГ форма кровотока изменена, HV1. Желчный пузырь: размер маленький, 45 x 20 мм. Форма не изменена. Толщина стенки увеличена, 7 мм (отек перивезикальной клетчатки). Эхогенность стенки повышенная, эхоструктура несколько однородная. Содержимое достаточно однородное. Внутривенечные желчные протоки: не расширены. Гепатикохоледох: не визуализируется. Поджелудочная железа: контуры нечеткие, ровные. Размеры крупные: головка 33 мм, тело 21 мм, хвост 25 мм. Эхогенность умеренно повышенная, эхоструктура умеренно диффузно-неоднородная. Главный панкреатический проток в видимых отделах не расширен. Портальная вена: диаметр увеличен, 13,5 мм (норма до 13 мм). В режиме ЦДК проходима, кровоток имеет правильное направление. Селезеночная вена: в области тела поджелудочной железы 12 мм (норма до 8 мм)., в области ворот селезенки диаметр не увеличен 9 мм (норма до 10 мм). Селезенка: размер увеличен, 156 x 55 мм; эхоструктура обычная. Свободная жидкость в брюшной полости определяется, значительное количество: вокруг печени толщиной до 40 мм, вокруг селезенки 50 мм, в правом латеральном канале до 70 мм, в левом – до 20-40 мм, в полости малого таза толщиной до 100 мм. Почки расположены обычно, нормальных размеров, паренхима сохранена, чашечно-лоханочная система не расширена.

По данным эзофагогастродуоденоскопии: Эндоскопическая картина варикозного расширения вен пищевода 1 ст. Желтуха.

Клинический диагноз:

Основное заболевание: Цирроз печени токсической этиологии, класс С по Child-Pugh (14 баллов), MELD-Na – 24,5 балла. Портальная гипертензия: напряженный асцит III степени, спленомегалия с синдромом гиперспленизма. ВРВП I ст. Тяжелый токсический гепатит (индекс Maddray 65.2).

Осложнения основного заболевания: Печеночная недостаточность: желтуха, гипоальбуминемия, гипокоагуляция. Печеночная энцефалопатия 1-2 ст.

3.5.2. Клиническое наблюдение 2

Пациентка М., 66 лет, при поступлении в стационар предъявляла жалобы на общую слабость, утомляемость, постоянную ноющую боль в области правого подреберья.

Из анамнеза известно, что у пациентки в течение длительного времени имеется избыточная масса тела. Со слов пациентки, в 2017 году установлен диагноз: гипертоническая болезнь 2 степени, 2 стадии. В ноябре 2020 г. при диспансерном наблюдении выявлены отклонения в биохимическом анализе крови: АСТ 146 ед/л, АЛТ 107 ед/л, холестерин 7,2 ммоль/л. Гамма-глобулины в норме. Маркеры вирусных гепатитов отр. По данным фиброзластометрии: фиброз F3 по шкале METAVIR, стеатоз S2. Была рекомендована терапия препаратами урсодезоксихолевой кислоты. В последующем, пациентка отметила возникновение и нарастание жалоб на общую слабость, утомляемость, постоянную ноющую боль в области правого подреберья. Госпитализирована в стационар для обследования и коррекции терапии.

Объективно: состояние средней тяжести. Рост 162 см, Вес 72 кг. ИМТ 27,4 кг/м². Температура тела 36,6 градусов. Кожа и слизистые: физиологической окраски, единичные телеангиоэктазии. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧДД – 19 в мин. SatO₂ – 99%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, ЧСС – 75 в мин.

АД (на фоне терапии) 120 и 80 мм рт. ст. Живот при пальпации мягкий, умеренно болезненный в правом подреберье. Печень +4 см ниже края реберной дуги по срединной линии. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Стул регулярный, без патологических примесей. Мочеиспускание не нарушено.

На основании жалоб, данных анамнеза заболевания и объективного осмотра пациентке был установлен предварительный диагноз: Фиброз печени в исходе неалкогольной жировой болезни печени. Сопутствующие заболевания: Гипертоническая болезнь 2 степени, 2 стадии. Избыточная масса тела. Пациенткой было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

При обследовании:

В общем анализе крови: гемоглобин – 128 г/л, эритроциты – $4,22 \times 10^{12}/л$, лейкоциты – $5,8 \times 10^9/л$, тромбоциты – $150 \times 10^9/л$, СОЭ – 6 мм/ч.

В биохимическом анализе крови: натрий – 139 ммоль/л; калий – 4,1 ммоль/л; аланиновая аминотрансфераза – 58 ед/л; аспарагиновая аминотрансфераза – 72 ед/л; гаммаглутамилтранспептидаза – 68 ед/л; щелочная фосфатаза – 85 ед/л; общий белок – 72 г/л; альбумин – 38 г/л; глюкоза – 5,1 ммоль/л; креатинин – 70 мкмоль/л; билирубин общий – 18,5 мкмоль/л; прямой билирубин – 5,2 мкмоль/л; С-реактивный белок – 2,5 мг/л; иммуноглобулин G (IgG) – 10,5 г/л; иммуноглобулин M (IgM) – 1,2 г/л; иммуноглобулин A (IgA) – 1,8 г/л; ферритин – 65 мкг/л; насыщение трансферрина железом – 28%; церулоплазмин – 0,32 г/л; суточное количество меди в моче – 0,4 мкмоль/сут; уровень свободной меди в плазме крови – 1,8 мкмоль/л.

В коагулограмме: активированное частичное тромбопластиновое время, отношение – 1,11; МНО – 1,6; протромбиновое время – 13,3 сек; тромбиновое время – 30,2 сек; фибриноген – 1,24 г/л.

В липидограмме: общий холестерин – 6,8 ммоль/л; триглицериды – 2,9 ммоль/л; ЛПВП – 0,9 ммоль/л; ЛПНП – 4,2 ммоль/л; индекс атерогенности – 4,6.

Маркеры аутоиммунных заболеваний AMA, ANA, SMA и anti-LKM1 в норме. Уровень онкомаркеров в норме.

Анализ мочи без особенностей.

По заключению офтальмолога: кольца Кайзера–Флейшера – отсутствуют.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости:

Размеры печени увеличены, левая доля 64 x 132 мм (норма до 60 x 100 мм), хвостатая доля 70 x 35 x 50 мм, правая доля 110 x 170 мм (норма до 125 x 145 мм). Эхогенность незначительно повышенная. Эхоструктура диффузно-неоднородная, с участками снижения эхогенности преимущественно без четких контуров и капсулы, размером до 5-7 мм. Сосудистый рисунок: количество визуализируемых сосудов снижено, печеночные вены визуализируются адекватно, диаметр 5-7 мм. Желчный пузырь: размер увеличен, 103 x 35 x 35 мм. Форма изменена, нерезкий перегиб на границе шейки и тела. Толщина стенки не увеличена, 1-1,5 мм. Эхогенность стенки повышенная, эхоструктура однородная. Содержимое однородное. Внутривенные желчные протоки: не расширены. Гепатикохоледох: не расширен, 4 мм. Поджелудочная железа: контуры нечеткие, ровные. Размеры обычные: головка ~20 мм, тело ~13 мм, хвост ~23 мм. Эхогенность умеренно повышена, эхоструктура умеренно диффузно-неоднородная. Главный панкреатический проток не расширен. Портальная вена: диаметр неизменен, 10 мм (норма до 13 мм). При ЦДК проходима (на уровне ворот печени), направление кровотока правильное. Селезеночная вена: диаметр неизменен, в области ворот селезенки 7 мм (норма до 10 мм), в области тела поджелудочной железы 5 мм (норма до 8 мм). Селезенка: размеры не изменены, 105 x 35 мм; эхоструктура обычная. Свободная жидкость не определяется. Почки расположены обычно, нормальных размеров, паренхима сохранена, чашечно-лоханочная система не расширена.

По данным фиброэластометрии: Стадия фиброза по шкале METAVIR – 4, стеатоз S2.

По данным эзофагогастродуоденоскопии: Эндоскопическая картина без признаков патологических изменений.

Клинический диагноз:

Основное заболевание: Цирроз печени в исходе неалкогольной жировой болезни печени класс А по Child-Pugh (7 баллов).

Сопутствующие заболевания: Гипертоническая болезнь 2 степени, 2 стадии. Избыточная масса тела. Дислипидемия.

Представленные клинические случаи наглядно демонстрируют различия в течении заболевания печени на стадии цирроза в исходе алкогольной болезни печени (АБП) и неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), что подтверждено как данными лабораторных и инструментальных методов исследований, так и результатами проведенного метаболомного анализа, представленными в таблице 19.

У пациентки А., 59 лет с циррозом печени токсической этиологии наблюдается картина декомпенсированного цирроза печени, с проявлениями синдрома печеночно-клеточной недостаточности, печеночной энцефалопатии и портальной гипертензии. В метаболомном профиле в сравнении с пациенткой М., 66 лет с компенсированным циррозом печени мы видим существенные различия метаболомного профиля.

Целевой метаболомный анализ выявил системные нарушения метаболического гомеостаза (Таблица 19). Их структура демонстрирует четкую дифференциацию представленных нозологических форм по выделенным нами метаболомным факторам.

Таблица 19 – Сопоставление результатов целевого метаболомного анализа пациентов с циррозом печени различной этиологии

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Пациентка А., 59 лет ЦП в исходе АБП	Пациентка М., 66 лет ЦП в исходе НАЖБП
Метаболиты триптофана		
3-ОН Антраниловая кислота	0,04	0,12
Антраниловая кислота	0,116	0,8697
5-Гидрокситриптофан	1,924	6,9248
5-Метокситриптами	0,465	0,5345
6-Гидроксимелатонин	0,1853	0,0557
5-Гидроксииндолуксусная кислота	0,5041	0,1803

Продолжение Таблицы 19

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Пациентка А., 59 лет ЦП в исходе АБП	Пациентка М., 66 лет ЦП в исходе НАЖБП
Индол-3-уксусная кислота	1,6972	0,7657
Индолил-3-масляная кислота	0,0465	0,0222
Индол-3-карбоксальдегид	0,7085	0,5017
Индол-3-молочная кислота	0,5899	0,8225
Индол-3-пропионовая кислота	0,9514	0,4073
Кинуреновая кислота	0,2851	0,2888
Кинуренин	2,9381	1,6927
Мелатонин	0,0023	0,0067
Хинолиновая кислота	1,8168	2,9250
Серотонин	0,3218	0,7348
Триптамин	0,0060	0,00615
Триптофан	18,4269	35,8422
Ксантуруеновая кислота	0,0128	0,0223
Аминокислоты и их метаболиты		
Аденозин	0,0284	0,06201
Аланин (IV МФ)	199,0482	401,5471
Аргинин	134,5451	103,9740
Аспарагин	273,6653	234,4021
Аспарагиновая кислота (II МФ)	39,61335	55,36145
Асимметричный диметиларгинин	0,42489	0,3526
Бетаин	19,7727	31,3293
Карнозин	0,2740	1,5415
Цитруллин	54,9828	34,0169
Цитидин	0,0025	0,0065
Диметилглицин (II МФ)	0,2528	0,7703
Глутаминовая кислота	677,8628	229,8533
Глутамин	118,9895	118,9683
Глицин (II МФ)	208,1858	274,4617
Гистидин	127,7007	145,2363
Гомоаргинин	2,8681	2,71952
Гидроксипролин	18,3240	6,8442
Лейцин (IV МФ)	55,0415	157,3473
Лизин (IV МФ)	164,0135	259,8758
Метионин сульфоксид	4,4887	3,3474
Метионин (VI МФ)	36,5464	36,5889
Метилгистидин	2,2491	3,7390
Общий диметиларгинин	0,9398	0,7508
Пролин	243,2549	0,0557
Серин (II МФ)	143,8256	272,6095
Таурин (II МФ)	34,1879	103,2131
Треонин	67,6852	94,3996
Валин (IV МФ)	71,5507	216,1722
Витамины группы В		
Биотин	0,0397	0,0257

Продолжение Таблицы 19

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Пациентка А., 59 лет ЦП в исходе АБП	Пациентка М., 66 лет ЦП в исходе НАЖБП
Пантотеновая кислота	0,1226	0,1581
Рибофлавин	0,0633	0,0557
Ацилкарнитины		
Карнитин (IV МФ) (C0)	18,2669	24,7515
Ацетилкарнитин (C2)	9,5552	4,4025
Пропионилкарнитин (IV МФ) (C3)	0,2762	0,2482
Бутирилкарнитин (IV МФ) (C4)	0,0816	0,0753
Валерилкарнитин (IV МФ) (C5)	0,0147	0,0323
Тиглилкарнитин (IV МФ) (C5-1)	0,0016	0,0072
Глутарилкарнитин (C5-DC)	5,0495	1,8689
3-Гидроксиизовалерилкарнитин (C5-OH)	0,0057	0,0058
Капроилкарнитин (C6)	0,0365	0,0121
Адипоилкарнитин (C6-DC)	0,0067	0,0102
Октаноилкарнитин (C8)	0,0632	0,0221
Октендиоилкарнитин (C8-1)	0,0555	0,0169
Деканоилкарнитин (C10)	0,0183	0,0073
Деценоилкарнитин (C10-1)	0,0141	0,0150
Декадиеноилкарнитин (C10-2)	0,0023	0,0016
Лауроилкарнитин (C12)	0,0342	0,0183
Додеценоилкарнитин (C12-1)	0,0399	0,0089
Миристоилкарнитин (C14)	0,0319	0,0154
Тетрадеценоилкарнитин (C14-1)	0,1280	0,0318
Тетрадекадиеноилкарнитин (C14-2)	0,0640	0,0200
3-Гидрокси- тетрадеcanoилкарнитин (C14-OH)	0,0025	0,0039

Продолжение Таблицы 19

Метаболиты ЕИ – мкмоль/л	Пациентка А., 59 лет ЦП в исходе АБП	Пациентка М., 66 лет ЦП в исходе НАЖБП
Пальмитоилкарнитин (C16)	0,0753	0,0643
Пальмитолеилкарнитин (C16-1)	0,0202	0,0086
3-Гидрокси- пальмитолеилкарнитин (C16-1-ОН)	0,0661	0,0782
3-Гидрокси-пальмитоилкарнитин (C16-ОН)	0,0064	0,0154
Стеароилкарнитин (C18)	0,0052	0,0099
Олеоилкарнитин (C18-1)	0,0690	0,0566
3-Гидрокси- октадецеаноилкарнитин (C18-1-ОН)	0,0033	0,0045
Линолеилкарнитин (C18-2)	0,0636	0,0489
3-Гидрокси- октадецеаноилкарнитин (C18-1-ОН)	0,0030	0,0035
Метаболиты катехоламинов		
Дигидроксифенилаланин (ДОФА)	18,5831	40,0821
Дофамин	0,1302	0,2817
Эпинефрин (VI МФ)	1,3627	0,8192
Метанефрин	0,0018	0,0189
Норэпинефрин	0,5005	1,0618
Норметанефрин	0,2623	0,6020
Фенилаланин (II МФ)	73,1399	84,1197
Тирозин (VI МФ)	152,7498	87,3059
Другие метаболиты:		
Гамма-аминомасляная кислота	1,1613	0,3655
Ацетилхолин	42,3120	38,0229
Холин (II МФ)	16,7000	34,0832
Кортизол	5,5509	3,6595
Креатинин	10,7820	14,5144
Гистамин	0,0023	0,0145
Триметиламин-N-оксид	1,4783	5,3494
Уридин	2,1324	7,3292

Так, у пациентки с декомпенсированным циррозом печени мы видим характерный подъем уровня метаболитов, входящих в состав II и VI метаболомных факторов, и снижение концентрации компонентов IV метаболомного фактора.

Выявленные метаболомные различия отражают как различное влияние этиологии самого заболевания (АБП/НАЖБП), так и нарушения метаболического гомеостаза по мере прогрессирования заболевания (Класс С/Класс А по Child-Pugh).

Вместе с этим, в структуре общего метаболомного профиля пациентки с декомпенсированным ЦП нами отмечены специфические изменения. Они отражают выраженную активацию кинуренинового пути метаболизма триптофана при одновременном снижении образования серотонина, как проявление системного воспаления. Параллельно отмечен дисбаланс обмена аминокислот – снижение уровня аминокислот с разветвленной цепью и повышение ароматических аминокислот и признаки митохондриальной дисфункции, проявляющиеся накоплением коротко- и среднецепочечных ацилкарнитинов.

Проведенный анализ демонстрирует, как метаболомные исследования подтверждают глубинные патофизиологические механизмы, определяющие различия в течении цирроза печени различной этиологии, и открывают перспективы для разработки персонализированных подходов к терапии.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Целью настоящего исследования было определить взаимосвязь клинико-лабораторных проявлений течения заболеваний печени в рамках алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени и изменений, выявленных на метаболомном уровне. А также определить фенотипические различия метаболомного профиля на разных стадиях заболеваний, выявить маркеры митохондриальной дисфункции и нарушений биохимических путей, реализуемых в организме на фоне развития представленных нозологических форм.

Для этого необходимо было установить спектр метаболитов у пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени на основании проведения метаболомного анализа образцов сыворотки крови, выявить взаимосвязь метаболомного профиля пациентов с АБП и НАЖБП с клиническими проявлениями заболевания, а также с данными лабораторных и инструментальных методов обследования.

В условиях стационара обследовано 120 пациентов с предварительным диагнозом «алкогольная болезнь печени» и «неалкогольная жировая болезнь печени». Из них 84 пациента отобрано для дальнейшего исследования в соответствии критериями включения. Согласно стандартам оказания медицинской помощи и клиническими рекомендациями, всем пациентам были проведены клинико-лабораторное обследование, ультразвуковое исследование брюшной полости и эзофагогастродуоденоскопия.

Для более полной оценки изменений метаболома нами было инициировано одномоментное целевое метаболомное исследование сыворотки крови пациентов и группы здоровых добровольцев, направленное на определение концентраций 96 метаболитов из различных биохимических путей. Были проанализированы метаболиты группы ацилкарнитинов (коротко-, средне- и длинноцепочечные), триптофан и его метаболиты, различные нейромедиаторы, аминокислоты и их производные, витамины группы В и другие биоактивные молекулы.

Метаболомный анализ позволил идентифицировать 25 ключевых биологических путей, отражающих основные метаболические процессы в организме. Наиболее охваченными биохимическими путями в нашем исследовании являются метаболизм триптофана и обмен аммиака (уровень статистической значимости после поправки на множественные сравнения $q < 0,05$). Вместе с этим, мы можем оценить тенденции изменений таких биохимических путей, как метаболизм метионина, цикла мочевины, метаболизма глицина, серина и бетаина, а также метаболизма бета-аланина ($0,05 < q < 0,1$).

Большинство современных исследований направлены на целевой анализ лишь небольшого набора определенных малых молекул. Результаты, полученные в ходе настоящей работы, предоставляют возможность для более точной оценки метаболомных изменений, которые потенциально могут лечь в основу глубинного понимания патофизиологических аспектов развития и прогрессирования заболеваний печени, исследованных в работе, а также открывают перспективу для развития методов ранней диагностики, создания новых диагностических панелей, а также для совершенствования подходов к профилактике и терапии заболеваний.

Изучение метаболома человека как общей совокупности всех малых молекул, находит отражение в исследованиях с определением небольшого количества данных. В ходе нашего исследования удалось получить значительный объем результатов целевого метаболомного анализа сыворотки крови пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени. Представленные результаты позволили выявить различия в изучаемых группах пациентов, что подчеркивает и дополняет ранее обсуждавшиеся изменения метаболомного профиля на фоне различных заболеваний, в том числе заболеваний печени.

Для снижения размерности полученных данных для статистического анализа был выбран факторный анализ методом главных компонент, в ходе которого выделено 6 главных факторов (компонент), в отношении которых нами предложено использование термина «*метаболомный фактор*».

Каждый выявленный нами метаболомный фактор (МФ) включает в себя различные метаболиты, а установленные между ними корреляции потенциально отражают как явные, так и скрытые взаимосвязи биохимических процессов в организме человека на фоне изучаемых нозологических форм и прогрессирования заболеваний [15]. Что не менее важно, все компоненты метаболомного фактора согласуются между собой на клеточном и молекулярном уровнях, опосредуя ряд биохимических процессов, непрерывно протекающих в организме человека.

Результаты нашего исследования продемонстрировали существенные различия в метаболомном профиле пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени (Рисунок 7).

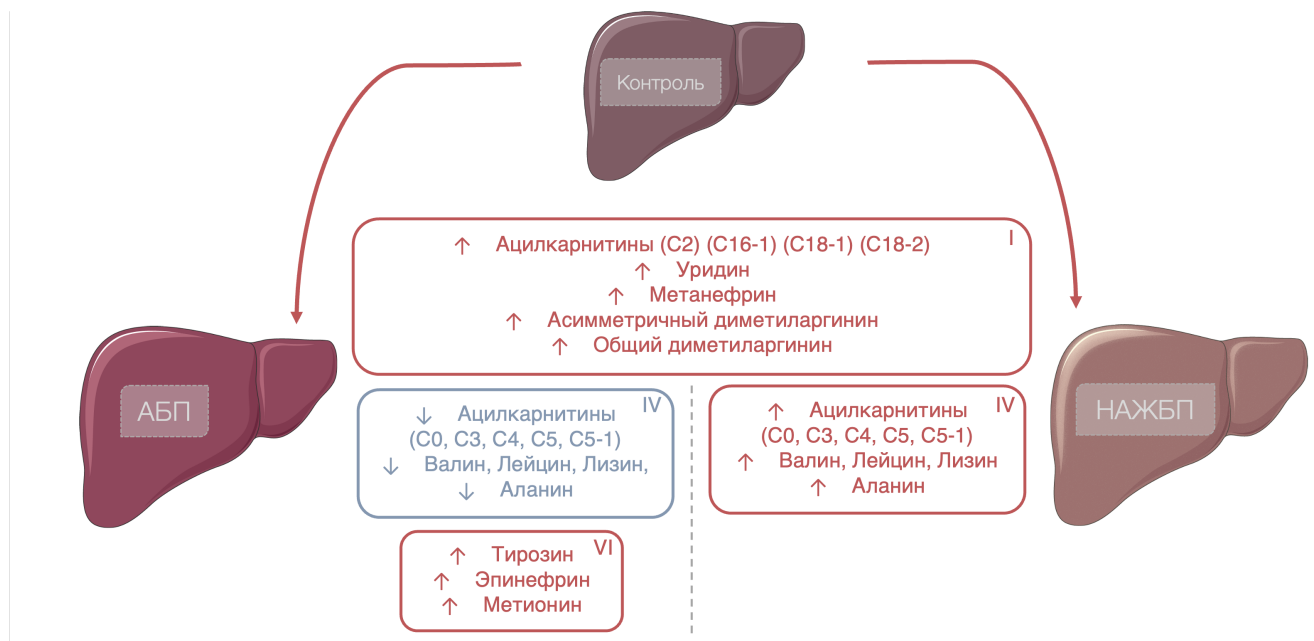


Рисунок 7 – Изменения метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени в сравнении с группой контроля

Пациентов с заболеваниями печени отличало от группы здоровых людей статистически значимое повышение уровня метаболитов I МФ ($p_{АБП} = 0,003$; $p_{НАЖБП} = 0,015$). Сопоставляя результаты корреляционного анализа с данными лабораторных методов исследования, нами отмечена существенная связь I метаболомного фактора с лабораторными проявлениями печеночной

недостаточности: гипоальбуминемией ($p < 0,001$), гипербилирубинемией ($p < 0,001$) и гипокоагуляцией ($p < 0,05$). Вместе с этим, повышение уровня метаболитов ассоциировано с тромбоцитопенией ($p < 0,001$) и анемией ($p < 0,05$), сниженным уровнем ЛПВП ($p < 0,05$) и повышенной секрецией IgA ($p < 0,001$). Повышение метаболической активности сочеталось с увеличением расчетного индекса FIB-4, что указывает на потенциальную связь с прогрессированием заболевания печени и развитием фиброза ($p < 0,001$).

В I МФ вошли молекулы из различных биохимических путей, которые в той или иной степени могут потенциально отражать процессы нарушения энергетического и углеводного обмена, явления митохондриальной и эндотелиальной дисфункции. При сопоставлении собственных результатов исследования с данными, опубликованными в литературе, получены подтверждения непосредственной связи большинства молекул указанных в этом МФ с метаболической активностью клеток печени [44, 55, 69, 99, 185].

Так, например, ранее было высказано предположение, что накопление преимущественно длинноцепочечных карнитинов, таких как альмитоил-КоА, олеоил-КоА и линолеоил-КоА, и одновременное снижение уровня карнитина (C0) может потенциально указывать на нарушение процессов β -окисления жирных кислот [95]. Таким образом, выявленная в нашей работе корреляционная связь между длинноцепочечными ацилкарнитинами внутри фактора подчеркивает их сочетанные изменения концентраций в рамках митохондриальной дисфункции [120]. Помимо длинноцепочечных ацилкарнитинов, в I МФ вошла молекула ацетилкарнитина (C2). Ряд авторов предприняли попытки изучить влияние ацетилкарнитина на проявление печеночной энцефалопатии [31]. Однако, насколько нам известно, исследований, направленных на изучение исходного уровня данного метаболита на фоне заболеваний печени, до настоящего времени не описано.

Также в рамках первого метаболомного фактора у пациентов как с алкогольной болезнью печени, так и с неалкогольной болезнью печени, отмечено повышение уровня уридина, пиримидинового нуклеозида урацила, необходимого

для синтеза ДНК и РНК [61]. Печень является ключевым органом, способным регулировать базальный уровень уридина в организме человека за счет процессов синтеза и катаболизма [55]. Данные литературы указывают на ключевую роль уридина в поддержании энергетического обмена, метаболизма глюкозы и гликогена [143]. Ряд исследований как на мышинной модели, так с участием пациентов продемонстрировали способность уридина моделировать энергетический обмен, а также регулировать чувство голода и насыщения в контексте нейроэндокринной регуляции и активации синтеза лептина [44, 69].

Важной составляющей I МФ является метанефрин, продукт метаболизма катехоламинов (адреналина и норадреналина), который образуется в результате процесса метилирования. В цитозоле и митохондриях гепатоцитов происходит катаболизм катехоламинов [185]. Как на животных моделях, так и на пациентах, было показано, что уровень катехоламинов в плазме увеличивается на фоне приема алкоголя, а также у пациентов с циррозом печени различной этиологии [162]. Установлено, что в печени катехоламины способны регулировать глюконеогенез и глюконеогенез [136, 159], а также опосредовано усиливать липолиз и β -окисления жирных кислот в митохондриях гепатоцитов [158]. Исследования на животной модели демонстрируют, что катехоламины способны непосредственно регулировать внутриклеточное расщепление триглицеридов до свободных жирных кислот, а также ограничивать секрецию ЛПОНП [154, 155]. В контексте нашего исследования повышение уровня метанефрина на фоне АБП и НАЖБП, указывает на тесную связь между нарушением инактивации катехоламинов и глубокой митохондриальной дисфункцией, что, вероятно, усугубляет метаболический дисбаланс, характерный для поздних стадий заболевания [149, 159].

В ходе нашего исследования у пациентов с заболеванием печени было отмечено повышение уровня общего диметиларгинина и асимметричного диметиларгинина в составе первого метаболомного фактора. Многочисленные клинические исследования демонстрируют, что повышенный уровень асимметричного диметиларгинина способен опосредовано оказывать патологическое системное воздействие [47, 151]. Данный метаболит может

демонстрировать уремическое токсическое действие, а также способен ингибировать эндотелиальную синтазу азота [173, 176]. На фоне снижения уровня оксида азота наблюдаются явления системной вазоконстрикции, а также увеличение продукции супероксида и, как следствие, образование пероксинитрита, который способен повреждать митохондрии, приводить к перекисному окислению липидов, а также повреждать структуру ДНК [48, 147, 165].

Установлено, что в большинстве клинических случаев при НАЖБП наблюдается инсулинорезистентность, на фоне которой активированный липолиз способствует повышению уровня свободных жирных кислот и увеличивает нагрузку на митохондриальный метаболизм [73, 80, 158]. Развитие оксидативного стресса приводит к нарушению функционирования цикла трикарбоновых кислот (цикла Кребса), что сопровождается накоплением молекул ацетил-КоА [20]. На фоне повышенного уровня этого метаболита в литературе описан ряд негативных эффектов: ингибирование пируватдегидрогеназы, опосредованная активация воспаления, формирование активных форм кислорода и увеличение экспрессии генов липогенеза [83, 91, 140]. Процесс компенсации токсических эффектов на биохимическом уровне находит отражение в повышении уровня ацетилкарнитина (C2) на фоне повышения ацетил-КоА в рамках реакции, катализируемой карнитин-ацетилтрансферазой ($\text{ацетил-КоА} + \text{L-карнитин} \rightleftharpoons \text{ацетил-карнитин (C2)} + \text{КоА}$) [32, 33]. Согласно литературным данным, повышение уровня ацетилкарнитина (C2) наблюдается при стеатозе и стеатогепатите и отражает накопление ацетил-КоА вследствие митохондриальной дисфункции и блокады его вступления в цикл трикарбоновых кислот [53, 80]. Эти результаты согласуются с полученными нами данными.

В ходе проведенного нами исследования отмечены статистически значимые различия метаболома пациентов с АБП и НАЖБП по метаболической активности IV МФ ($p = 0,012$). Так, у пациентов с АБП были отмечены статистически значимые более низкие уровни ключевых компонентов этого фактора: карнитина, короткоцепочечных ацилкарнитинов (C3, C4, C5) и аминокислот валина, лейцина, лизина и аланина. Результаты опубликованных исследований, посвященных

патофизиологии печени, обсуждают дефицит карнитина в плазме у пациентов на фоне хронического употребления алкоголя [62]. При этом ранние исследования на животных моделях демонстрируют, что добавление карнитина в рацион может модулировать симптомы алкогольной зависимости [76].

Аланин, аминокислота, вошедшая в IV МФ, обладает не только протеиногенными свойствами, но и является глюконеогенным субстратом, принимает участие в глюкозо-аланиновом цикле (цикле Кэхилла) и потенциально может отражать митохондриальный и энергетический обмен [153]. Аланин напрямую задействован в реакции трансаминирования, и последующий его катаболизм в рамках глюконеогенеза осуществляется в печени [111, 157]. Вместе с этим, результаты исследований демонстрируют, что на фоне инсулинорезистентности и стеатоза печени в плазме может повышаться уровень аланина.

Установленное нами повышение уровня аминокислот с разветвленной цепью (ВСАА: валин и лейцин) у пациентов с НАЖБП могут быть проявлением выраженной инсулинорезистентности. В норме инсулин способен подавлять активный протеолиз в мышечной ткани и регулировать захват различных аминокислот. Существуют данные, что повышенные уровни ВСАА, особенно в высоких концентрациях, могут опосредованно способствовать прогрессированию инсулинорезистентности через активацию сигнального пути mTORC1/S6K1, нарушающую передачу сигнала от инсулинового рецептора и снижающую эффективность поглощения глюкозы периферическими тканями [134, 138]. Результаты некоторых исследований демонстрируют связь ВСАА с ожирением и сахарным диабетом 2 типа [115].

Повышенный уровень ВСАА в крови при НАЖБП связан не только с инсулинорезистентностью, но и опосредован развитием вторичной митохондриальной дисфункции в гепатоцитах с накоплением длинноцепочечных ацилкарнитинов — маркером нарушения митохондриального β -окисления. Возникающая на этом фоне гипергликемия и гиперинсулинемия дополнительно стимулируют липогенез и усугубляют стеатоз печени. Одновременно с этим,

инсулинорезистентность гепатоцитов нарушает подавление глюконеогенеза, усугубляя метаболические нарушения [118]. Таким образом, в контексте НАЖБП инсулинорезистентность можно рассматривать и как инициирующий фактор, и как механизм, поддерживающий порочный круг молекулярных нарушений, усугубляя митохондриальную дисфункцию и липотоксичность, тем самым определяя прогрессирование заболевания.

Пациентов с АБП отличало от пациентов с НАЖБП и группы контроля статистически значимое повышение метаболитов VI МФ ($p < 0,0001$), что будет обсуждено позднее. По нашему мнению, это во многом согласуется с более выраженной тяжестью цирроза печени, которая наблюдалась в когорте пациентов с АБП.

Нам представилось интересным оценить различия метаболомного профиля пациентов на фоне прогрессирования заболевания с циррозом печени.

Установлены статистически значимые различия метаболомного профиля в группе пациентов с циррозом печени в сравнении с группой лиц без клинико-лабораторных признаков цирроза печени. На фоне прогрессирования фиброза печени нами были отмечено повышение метаболической активности I, V и VI метаболомных факторов и снижение концентраций метаболитов IV МФ ($pI = 0,003$; $pV = 0,002$; $pVI < 0,0001$; $pIV = 0,0002$) (Рисунок 8).

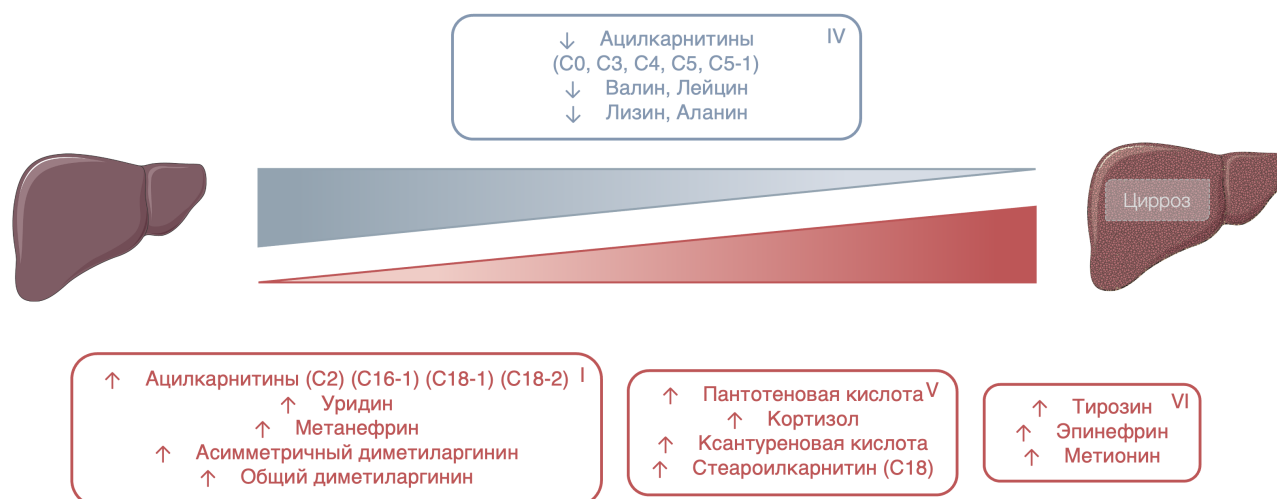


Рисунок 8 – Изменения метаболомного профиля пациентов с циррозом печени в сравнении с группой без цирроза печени

Для выявления связи метаболомных факторов с наличием цирроза печени у пациентов нами была применена модель бинарной логистической регрессии, которая выявила статистически значимые ассоциации в отношении I МФ (ОШ 2,565; 95% ДИ 1,105 - 5,956; $p = 0.0284$), IV МФ (ОШ 0,366; 95% ДИ 0,212 - 0,632; $p = 0.0003$) и VI МФ (ОШ 11,580; 95% ДИ 4,070 - 32,948; $p < 0,0001$). Таким образом, мы можем рассуждать, что различия в уровнях метаболитов V МФ у пациентов с циррозом печени в отличие от группы без цирроза вероятно ассоциированы с другими, неспецифичными для диагноза цирроза, патофизиологическими процессами. К ним могут относиться: 1) общая активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (повышение уровня кортизола) в ответ на системный стресс; 2) хроническое иммунное воспаление и активация пути кинуренина (повышение концентрации ксантуреновой кислоты); 3) изменения метаболизма кофермента А (повышение уровня пантотеновой кислоты). Эти процессы, безусловно, сопровождают прогрессирование заболевания, но, по-видимому, в меньшей степени позволяют дифференцировать наличие цирроза как исхода, в отличие от более специфичных нарушений, отраженных в I, IV и VI МФ.

Как известно, при прогрессировании фиброза печени на морфологическом уровне наблюдается активация воспалительных и вазоактивных процессов,

которые в конечном итоге опосредованно приводят к увеличению сосудистого сопротивления в печеночных синусоидах и развитию портальной гипертензии. В ответ на стимуляцию наблюдается повышение активности эндотелиальной синтазы оксида азота и секреции активного вазодилатора – оксида азота (NO) [17, 133].

Вместе с этим, наблюдаемая у пациентов с ЦП бактериальная транслокация, опосредует эндотоксемию и секрецию провоспалительных цитокинов, стимулируя иммунные клетки к синтезу индуцибельной синтазы оксида азота. Этот процесс усугубляет системную вазодилатацию, способствуя развитию эндогенной дисфункции эндотелия. Парадоксальным образом, в печени при этом формируется дефицит NO из-за повреждения синусоидальных эндотелиоцитов, что усиливает внутрипеченочное сопротивление. Важным маркером эндотелиальной дисфункции и нарушения метилирования является асимметричный диметиларгинин (АДМА), конкурентный ингибитор эндотелиальной синтазы оксида азота [17, 57, 173]. В нашем исследовании изменение уровня АДМА в составе I метаболомного фактора ассоциировано с наличием цирроза печени, что может отражать как нарушение его синтеза, так и участие этого метаболита в сложной регуляции сосудистого тонуса.

Компенсаторно, на фоне снижения перфузии внутренних органов, наблюдается активация симпатической нервной системы и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [174]. Это проявляется повышенным выбросом адреналина (эпинефрина), что отражено в повышении уровня VI метаболомного фактора. Однако, развивающаяся резистентность сосудов к катехоламинам на фоне доминирующей вазодилатации делает компенсацию неполноценной. Итогом является формирование гипердинамической циркуляции (низкое сосудистое сопротивление и компенсаторный высокий сердечный выброс), которая лежит в основе полиорганных осложнений, таких как гепаторенальный синдром [133].

Таким образом, выявленные нами изменения метаболома, подтверждают сочетанные нарушения процессов метилирования и дезактивации адреналина в рамках VI МФ, а также асимметричного диметиларгинина (I МФ) на фоне прогрессирования заболевания печени. Как следствие, клинически могут

обнаруживаться сопутствующие гемодинамические изменения со стороны сердечно-сосудистой системы с развитием эндотелиальной дисфункции.

Как повышенный уровень метионина, так и повышенный уровень тирозина в рамках VI метаболомного фактора, могут указывать на усиление протеолиза в мышечной ткани. При этом мы предполагаем, что повышенный выброс эpineфрина ассоциирован с компенсаторными механизмами на фоне гемодинамических нарушений. Стоит отметить, что для утилизации указанных метаболитов в печени необходим S-аденозилметионин [114], синтез которого достоверно снижается у пациентов с циррозом, во многом из-за нарушений энергетического гомеостаза. Это находит отражение в результатах нашего исследования в повышении уровня метионина, предшественника S-аденозилметионина.

Выделенный нами IV метаболомный фактор, по данным корреляционного анализа, способен в большей степени отражать сохранную белково-синтетическую функцию печени, что отражает уровень альбумина крови ($p < 0,001$) и показатель МНО ($p < 0,001$). Была отмечена связь данных метаболитов с регрессом явлений холестаза, что подчеркивает отрицательная корреляционная связь с уровнем сывороточных маркеров (ГГТ ($p < 0,05$), ЩФ ($p < 0,001$), билирубина ($p < 0,05$)). Отмечена отрицательная корреляция с показателем прогностического индекса FIB-4 ($p < 0,05$). Также была выявлена отрицательная связь с уровнем IgG и IgA ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно), что можно рассматривать в рамках модуляции иммунного ответа.

Снижение уровня метаболитов IV МФ у пациентов с ЦП могут отражать причинно-следственные взаимоотношения, лежащие в основе компенсаторных механизмов поддержания энергетического гомеостаза и последующего развития декомпенсации заболевания.

Мышцы являются основным местом, где реализуется начальный катаболизм ВСАА с образованием глутамата и соответствующей α -кетокислоты. В последующем, исходно общий метаболический путь валина и лейцина дивергирует после стадии образования α -кетокислот с образованием различных конечных

продуктов, которые в последующим входят в глюкогенный (валин) и кетогенный (лейцин) пути соответственно [94, 138].

Данные литературы указывают на то, что повышение уровня ВСАА и аланина служит индикатором усиленного протеолиза и межорганного метаболического обмена, что сопровождается увеличением поступления углеродных субстратов в печень и их вовлечением в митохондриальный энергетический обмен [111, 153, 157]. В условиях повышенного потока аминокислотных метаболитов через цикл трикарбоновых кислот и катаболизм ВСАА возможно накопление промежуточных ацил-КоА-производных, что активирует карнитиновую буферную систему [129]. В результате часть этих соединений конъюгируется с карнитином с образованием короткоцепочечных ацилкарнитинов (C3–C5), что и отражено корреляционной связью IV МФ.

Таким образом, повышение активности I МФ у пациентов с циррозом печени во многом отражает процессы нарушения энергетического и углеводного обмена, митохондриальную дисфункцию, а также изменения в метаболизме аминокислот. VI МФ, в свою очередь, характеризует явления печеночно-клеточной недостаточности, нарушения процессов метилирования и дезактивации адреналина. Снижение же метаболической активности IV МФ по сравнению с группой контроля указывает на декомпенсацию заболевания. Выявленные нами изменения метаболома у пациентов с циррозом печени в сравнении с группой без признаков цирроза, согласуются с результатами отдельных метаболомных исследований и в совокупности формируют характерный клинико-лабораторный фенотип декомпенсированного цирроза [54].

При прогрессировании фиброза наблюдаются не только структурные и морфологические повреждения паренхимы печени, но и метаболические внутриклеточные нарушения гепатоцитов и иммунных клеток печени [101, 106]. Эти изменения приводят к активации патофизиологических каскадов активации фиброгенеза, модуляции системного воспаления, нарушения белково-синтетической и дезинтоксикационной функций печени, секреции желчных кислот. Что важно, здесь свой вклад вносит изменение биоразнообразия и

метаболической активности микробиоты кишечника. Таким образом, патогенез цирроза представляется нам как самоподдерживающаяся патологическая система, в которой каждый компонент выступает и как следствие предшествующих нарушений, и как причина последующих изменений.

При этом, нами отмечено существенное различие групп пациентов с циррозом печени в исходе АБП и НАЖБП по мере прогрессирования заболевания. Декомпенсированный цирроз печени класса С по Child-Pugh статистически значимо отличался от класса А по более низкой активности метаболитов II метаболомного фактора ($p = 0,0023$), что в контексте анализа самого метаболомного фактора может указывать на нарушение адаптации организма при декомпенсации заболевания, снижение процессов метилирования и дезинтоксикационной функции печени, снижение секреции липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), а также нарушения одноуглеродного метаболизма.

С клинической точки зрения, у пациентов на фоне декомпенсации печени мы можем наблюдать ряд синдромов, ассоциированных с метаболическими нарушениями. Так, например, изменение профиля аминокислот, может указывать на скрытые процессы развития и прогрессирования саркопении. Наряду с этим при декомпенсации заболевания, мы наблюдаем у пациентов развитие ПЭ, ассоциированной с повышенным уровнем аммиака, что является прямым следствием метаболических нарушений. А именно, сочетанное снижение синтеза мочевины (нарушение дезинтоксикации) и нарушение процессов метилирования (снижение уровня креатина) лишает мозг ключевого компонента энергетического гомеостаза и защиты от нейротоксичных метаболитов.

Нами также отмечено, что повышение метаболической активности VI метаболомного фактора наблюдалось по мере прогрессирования и развития декомпенсации ЦП, статистически значимо различая пациентов с ЦП класса В и С в сравнении с группой контроля ($p < 0,0001$). Анализ данного метаболомного фактора четко выявляет его связь с прогрессированием фиброза печени и развитием печеночно-клеточной недостаточности.

В совокупности, разнонаправленные изменения концентраций метаболитов II и VI метаболомных факторов подчеркивают замкнутость патогенетических каскадов, формирующих порочный круг.

При анализе подгрупп пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной болезни печени (АБП) и неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), несмотря на небольшую выборку пациентов, нами отмечены статистически значимые различия клинической картине пациентов. Большая часть пациентов с ЦП в исходе АБП клинически представлена классом цирроза В по шкале Child-Pugh ($n = 14$ (45,16%)), тогда, как пациентов с ЦП в исходе НАЖБП в основном представляет класс А. Вместе с этим, пациентов с ЦП в исходе АБП отличало наличие печеночной энцефалопатии ($n = 13$ (41,94%)), желтухи ($n = 17$ (54,84%)), асцита ($n = 14$ (45,16%)) и лабораторных признаков печеночно-клеточной недостаточности (гипоальбуминемия, гипокоагуляция) ($n = 22$ (70,97%)).

Анализ полученных результатов выявил статистически значимые различия в метаболомном профиле пациентов (Рисунок 9). Пациентов с АБП на стадии ЦП отличает снижение метаболической активности ключевых компонентов II МФ ($p = 0,007$). В отношении корреляции с данными лабораторных показателей была установлена статистически значимая положительная связь только с уровнем ЛПОНП ($p < 0,05$), что в некоторой степени подчеркивает связь исследованных метаболитов в синтезе, упаковке и секреции липопротеинов из печени.



Рисунок 9 – Изменения метаболомного профиля пациентов с циррозом печени в исходе алкогольной болезни и неалкогольной жировой болезни печени

II Метаболомный фактор объединил ряд метаболитов, задействованных в одноуглеродном метаболизме, включающем в себя совокупность биохимических процессов, связанных с переносом одноуглеродных групп (CH_2) [74, 142]. Этот путь известен своей ключевой ролью в образовании «новых» метильных групп, в литературе можно встретить термин «метилнеогенез». Одноуглеродный метаболизм сложен и обеспечивает метаболизм холина, серина, глицина (метаболитов, вошедших во II МФ), а также метионина, гистидина и триптофана; играет ключевую роль в синтезе нуклеотидов, метилировании ДНК и белков, а также в реакциях детоксикации [42, 59, 135].

Во II метаболомный фактор вошел холин, который является прямым предшественником фосфатидилхолина, основного фосфолипида мембраны ЛПОНП. В своих работах на мышинной модели Rinella M. E. и соавт. показали, что диета с дефицитом метионина и холина ассоциирована со снижением уровня ЛПОНП в сыворотке крови, но при этом наблюдается аккумулялирование липидов в гепатоцитах и развитие стеатоза печени [118]. Холин также является предшественником других мембранных фосфолипидов и сфинголипидов, а также нейромедиатора ацетилхолина [63].

Глицин играет ключевую роль в процессах детоксикации и выведения липофильных соединений через конъюгацию с ксенобиотиками и желчными кислотами [75]. Этот механизм повышает их растворимость в воде и ускоряет экскрецию с мочой или желчью. Вместе с этим, дефицит глицина может способствовать накоплению ксенобиотических ацил-КоА-эфиров и нарушать процессы β -окисления [86, 160].

Как предшественник фосфатидилхолина, серин принимает участие в синтезе ЛПОНП [90]. Соответственно, нарушение синтеза и упаковки липопротеидов может приводить к нарушению липидного обмена на уровне гепатоцитов. Это во многом согласуется и с результатами нашего исследования.

Наряду с названными метаболитами во II метаболомный фактор вошла аспарагиновая кислота (аспартат), играющая центральную роль в цикле мочевины. Снижение доступности аспартата при печеночной недостаточности напрямую лимитирует скорость детоксикации аммиака, способствуя развитию гипераммониемии [105, 109]. Аспартат обладает анаплеротической функцией, в отношении цикла Кребса, то есть способен пополнять пул его активных метаболитов (интермедиаторов), а также является предшественником для синтеза глюкозы [45].

В печени реализуется обмен аминокислот, в частности незаменимая аминокислота фенилаланин превращается в тирозин, который в последующем включается в ряд различных биохимических процессов [43, 163]. Накопление фенилаланина в сыворотке крови мы можем рассматривать в качестве потенциального маркера нарушения функции печени.

Таурин является важным составляющим компонентом таурохолевой кислоты [179]. Она также опосредованно поддерживает синтез глутатиона, тем самым стабилизируя митохондриальную функцию и снижая явления оксидативного стресса [105, 152].

Установлено, что этанол, выступая ключевым этиологическим фактором АБП, индуцирует экспрессию цитохрома P450 2E1 (CYP2E1). Активность данного фермента приводит к образованию реактивных форм кислорода и запуску

перекисного окисления липидов, что лежит в основе развития системного оксидативного стресса. Параллельно окисление этанола до ацетальдегида под действием алкогольдегидрогеназы сопряжено с потреблением NAD^+ , что вызывает резкое снижение внутриклеточного соотношения NAD^+/NADH . Нарушение данного окислительно-восстановительного баланса подавляет NAD^+ -зависимые метаболические пути, включая метаболизм серина и аспартата [156].

Важным следствием описанных метаболических сдвигов является истощение пула глицина, что ограничивает синтез глутатиона – ключевого клеточного антиоксиданта, – и тем самым способствуя прогрессированию оксидативного стресса. Одновременно дефицит таурина, также формирующийся на этом фоне, может нарушать процессы конъюгации желчных кислот, ослаблять антиоксидантную защиту и способствовать развитию митохондриальной дисфункции, что дополнительно снижает функциональный резерв печени [71, 105, 194].

Таким образом, печень служит центральным органом, интегрирующим ключевые метаболические пути, включая синтез аминокислот, липогенез и секрецию липопротеинов очень низкой плотности, цикл мочевины, детоксикацию и синтез желчных кислот. Выявленные нами метаболомные изменения II МФ напрямую могут служить индикатором этих процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы получены достоверные данные, свидетельствующие о различиях метаболомных профилей сыворотки крови пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени.

Статистическая обработка позволила выделить шесть «метаболомных факторов», которые описывают как характерные этиопатогенетические различия между представленными нозологиями, так и общие патофизиологические метаболические нарушения.

Так, центральное место в развитии обоих поражений печени занимает митохондриальная дисфункция, верифицированная по изменениям профиля ацилкарнитинов. Вместе с тем, несмотря на общность патогенетического механизма, различия между неалкогольной и алкогольной жировой болезнью печени во многом определяются доминированием дополнительных нарушений, специфичных для каждой из нозологических форм. В частности, при неалкогольной жировой болезни печени особенно значимым звеном выступает инсулинорезистентность.

Наряду с этим отмечены метаболические изменения на фоне прогрессирования заболевания до стадии цирроза. У пациентов с циррозом печени, как в исходе АБП, так и НАЖБП, выявлены маркеры системных метаболических нарушений, затрагивающих энергетический и углеводный обмен, митохондриальную функцию и метаболизм аминокислот. Кроме того, отмечаются снижение процессов метилирования и дезинтоксикационной функции печени, а также нарушения одноуглеродного метаболизма, что в совокупности с данными клинической картины отражает глубокую печеночно-клеточную дисфункцию, характерную для терминальных стадий заболевания.

Полученные в ходе настоящей работы данные подтверждают, что метаболомные исследования позволяют оценить глубинные молекулярные патофизиологические механизмы, определяющие различия в течении АБП

и НАЖБП, а также цирроза печени различной этиологии, и открывают перспективы для разработки персонализированных подходов к терапии.

Дальнейшие научные исследования на более крупной когорте пациентов целесообразно направить на исследование закономерностей определенных метаболитов, в том числе в рамках метаболомных факторов, сочетать их с исследованиями микробного разнообразия кишечника.

ВЫВОДЫ

1. При анализе метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени (АБП) и неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) выделены 6 отличающихся друг от друга профилей метаболитов - метаболомных факторов (МФ), что указывает на их возможную роль в развитии данных поражений печени и их выраженности: I МФ (*ацетилкарнитин (C2), пальмитолеилкарнитин (C16-1), олеилкарнитин (C18-1) и линолеилкарнитин (C18-2), уридин, метанефрин, общий и асимметричный диметиларгинин*), II МФ (*холин, серин, глицин, аспарагиновая кислота, фенилаланин, диметилглицином и таурином*), III МФ (*лауроилкарнитин (C12), додеценоилкарнитин (C12-1), тетрадеценоилкарнитин (C14-1), деканоилкарнитин (C10), капроилкарнитин (C6), миристоилкарнитин (C14)*), IV МФ (*валерилкарнитин (C5), пропионилкарнитин (C3), тиглилкарнитин (C5-1), карнитин (C0), бутирилкарнитин (C4), валин, лейцин, лизин, аланин*), V МФ (*витамин B5 (пантотеновая кислота), кортизол, ксантуреновая кислота, стеароилкарнитин (C18)*), VI МФ (*тирозин, эпинефрин, метанефрин*).

2. При АБП и НАЖБП повышены уровни метаболитов I метаболомного фактора (*ацетилкарнитина, пальмитолеилкарнитина, олеилкарнитина и линолеилкарнитина, уридина, метанефрина, общего и асимметричного диметиларгинина* ($p_{\text{АБП}} = 0,003$; $p_{\text{НАЖБП}} = 0,015$)).

3. При АБП, в отличие от НАЖБП, отмечаются более низкие уровни метаболитов IV метаболомного фактора: *карнитина, ацилкарнитинов (C3, C4, C5), валина, лейцина, лизина, аланина* ($p = 0,012$), а также более высокие уровни метаболитов VI метаболомного фактора (*тирозина, эпинефрина, метанефрина*) ($p < 0,0001$).

4. Цирроз печени в исходе АБП и НАЖБП ассоциирован со снижением уровня IV метаболомного фактора (ОШ 0,366; 95% ДИ 0,212 - 0,632; $p = 0.0003$); повышением уровня I метаболомного фактора (ОШ 2,565; 95% ДИ 1,105 - 5,956; $p = 0.0284$) и VI метаболомного фактора (ОШ 11,580; 95% ДИ 4,070 - 32,948;

$p < 0,0001$), что коррелирует с основными клинико-лабораторными характеристиками прогрессирования заболевания.

5. Цирроз печени в исходе АБП характеризуется более низкими уровнями метаболитов II метаболомного фактора, по сравнению с циррозом в исходе НАЖБП ($p = 0,007$).

6. При декомпенсации цирроза печени в исходе АБП и НАЖБП отмечены разнонаправленные изменения концентраций метаболитов, выражающиеся в снижении уровня II метаболомного фактора ($p = 0,0023$) и повышении уровня VI метаболомного фактора ($p < 0,0001$).

7. Цирроз печени в исходе АБП и НАЖБП ассоциирован с изменением метаболизма триптофана: снижением концентрации *серотонина* (ОШ 0,038; 95% ДИ 0,010 - 0,149; $p < 0,0001$) и повышением концентрации *кинуренина* (ОШ 2,931; 95% ДИ 1,559 - 5,510; $p = 0,0008$); снижением уровня микробных метаболитов триптофана: *индол-3-уксусной кислоты* (ОШ 0,348; 95% ДИ 0,174 - 0,697; $p = 0,003$) и *индол-3-карбоксальдегида* (ОШ 0,036; 95% ДИ 0,003 - 0,454; $p = 0,0102$).

8. Цирроз печени в исходе АБП и НАЖБП ассоциирован с изменением уровня аминокислот, участвующих в цикле аммиака: *аланина* (ОШ 0,995; 95% ДИ 0,990 - 1,000; $p = 0,048$), *бетаина* (ОШ 1,050; 95% ДИ 1,024 - 1,078; $p = 0,0002$), *глутамина* (ОШ 0,990; 95% ДИ 0,984 - 0,997; $p = 0,003$), *глутаминовой кислоты* (ОШ 1,002; 95% ДИ 1,001 - 1,004; $p = 0,0005$), *глутамин* (ОШ 0,990; 95% ДИ 0,984 - 0,997; $p = 0,003$), *метионина* (ОШ 1,103; 95% ДИ; 1,051 - 1,158; $p = 0,0001$), *таурина* (ОШ 0,983; 95% ДИ 0,972 - 0,995; $p = 0,0049$), *карнозина* (ОШ 0,553; 95% ДИ 0,341 - 0,895; $p = 0,016$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для разработки диагностической панели нарушений метаболомного профиля при алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени рекомендуется включить в нее метаболиты следующих метаболомных факторов: I МФ (ацетилкарнитин (C2), пальмитолеилкарнитин (C16-1), олеoilкарнитин (C18-1) и линолеилкарнитин (C18-2), уридин, метанефрин, общий и асимметричный диметиларгинин), II МФ (холин, серин, глицин, аспарагиновая кислота, фенилаланин, диметилглицином и таурином), III МФ (лауроилкарнитин (C12), додеценоилкарнитин (C12-1), тетрадеценоилкарнитин (C14-1), деканоилкарнитин (C10), капроилкарнитин (C6), миристоилкарнитин (C14)), IV МФ (валерилкарнитин (C5), пропионилкарнитин (C3), тиглилкарнитин (C5-1), карнитин (C0), бутирилкарнитин (C4), валин, лейцин, лизин, аланин), V МФ (витамин B5 (пантотеновая кислота), кортизол, ксантуреновая кислота, стеароилкарнитин (C18)), VI МФ (тирозин, эпинефрин, метанефрин).

2. При исследовании влияния биологически активных добавок в качестве потенциальной терапии алкогольной болезни печени и неалкогольной жировой болезни печени, рекомендуется учитывать результаты исследования с учетом многофакторности изменений метаболома человека.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБП – алкогольная болезнь печени

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией

ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ДИ – доверительный интервал

ЕИ – единицы измерения

ИМТ – индекс масса тела

ИФ – интерферон

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

МФ – метаболомный фактор

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени

ОШ – отношение шансов

ПЭ – печеночная энцефалопатия

СИБР – синдром избыточного бактериального роста

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФНО- α – фактор некроза опухоли α

ЦП – цирроз печени

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

ААА – ароматические аминокислоты

ВСАА – аминокислоты с разветвленной цепью

FIB-4 (Fibrosis-4) – расчетный показатель, используемый для неинвазивной оценки стадии фиброза печени.

КоА – коэнзим А

LQ (Lower quartile) – нижний квартиль

Me (Median) – медианна

NAD⁺ – никотинамидадениндинуклеотид

NADH – восстановленный никотинамидадениндинуклеотид

PCA (Principal component analysis) – анализ главных компонент

RMSEA (Root mean square error of approximation) – статистический индекс

UQ (Upper quartile) – верхний квартиль

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Винницкая, Е. В. Новая парадигма неалкогольной жировой болезни печени: фенотипическое многообразие метаболически ассоциированной жировой болезни печени / Е. В. Винницкая, Ю. Г. Сандлер, Д. С. Бордин // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16, № 24. – С. 54–63.
2. Гуляева, К. А. Частота и факторы риска печеночной энцефалопатии типа В у пациентов с нецирротическим неопухолевым тромбозом воротной вены : специальность 3.1.30. «Гастроэнтерология и диетология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Гуляева Ксения Александровна ; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2026. – 150 с.
3. Гусева, А. К. Клинические варианты течения IgG4-ассоциированного холангита : специальность 3.1.30. «Гастроэнтерология и диетология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Гусева Анна Константиновна ; Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 128 с.
4. Жаркова, М. С. Влияние синдрома избыточного бактериального роста и бактериальной транслокации на течение заболевания у больных циррозом печени / М. С. Жаркова, М. В. Маевская, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2012. – Т. 22, № 5. – С. 56–63.
5. Клинико-лабораторная характеристика цирроза печени в исходе хронического гепатита С на современном этапе / Н. А. Терешкин, В. В. Макашова, Ж. Б. Понежева [и др.] // Терапия. – 2025. – Т. 11, № 9(91). – С. 7-15. – DOI: 10.18565/therapy.2025.9.7-15.
6. 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. – Т. 26. – № 2. – С. 24-42.

7. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, Ч. С. Павлов [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. – Т. 27, № 6. – С. 20–40.

8. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества профилактики неинфекционных заболеваний, Российской ассоциации эндокринологов, Российского научного медицинского общества терапевтов, Национального общества профилактической кардиологии, Российской ассоциации геронтологов и гериатров по неалкогольной жировой болезни печени / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина, М. В. Маевская [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2025. – Т. 35, № 1. – С. 94–152.

9. Кодзоева, Х. Б. Факторы риска, ассоциированные с тромбозом воротной вены у больных циррозом печени : специальность 3.1.30. «Гастроэнтерология и диетология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Кодзоева Хава Багаудиновна; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2023. – 133 с.

10. Кожевникова, М. В. Метаболомное профилирование в диагностике и прогнозировании хронической сердечной недостаточности различной этиологии : специальность 3.1.20. «Кардиология» : диссертация ... доктора медицинских наук / Кожевникова Мария Владимировна; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 234 с.

11. Маркин, П. А. Методология фармакометаболического подхода в исследовании фармакологических эффектов физиологически активных веществ на

модели Danio rerio : специальность 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология» : диссертация ... кандидата фармацевтических наук / Маркин Павел Александрович; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2021. – 207 с.

12. Метаболические профили микробиоты кишечника у пациентов с разными стадиями метаболически ассоциированной жировой болезни печени / С. Цао, О. Ю. Зольникова, Р. В. Масленников [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2024. – Т. 34, № 4. – С. 64–74.

13. Метаболомные профили как новое понимание процессов болезни / О. Ю. Зольникова, М. С. Решетова, М. Н. Иванова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2022. – Т. 32, № 1. – С. 46–52.

14. Мусаева, Л. М. Метаболомное профилирование пациентов с ревматоидным артритом : специальность 3.1.27. «Ревматология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Мусаева Лариса Магомедовна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2026. – 142 с.

15. Определение метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени методом главных компонент / М. С. Решетова, П. А. Маркин, С. А. Апполонова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2025. – Т. 35, № 3. – С. 54–70.

16. Опыт применения левокарнитина у пациентов с постковидным синдромом / И. В. Кулес, К. А. Иванцов, И. Р. Гильмутдинова [и др.] // Лекарственные средства и рациональная фармакотерапия. – 2022. – № 5-1. – С. 50-60. – DOI 10.56356/23070749_2022_05_50.

17. Островская, А. С. Клиническое значение и диагностика саркопении у пациентов с циррозом печени : специальность 3.1.30. «Гастроэнтерология и диетология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Островская Анна

Сергеевна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2025. – 112 с.

18. Павлов, А. И. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени с сопутствующим астеническим синдромом / А. И. Павлов, М. В. Маевская, В. Т. Ивашкин // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 92, № 2. – С. 114–121.

19. Парфенов, А. А. Гепатопротекторные свойства конъюгата Ксимедона с L-аскорбиновой кислотой : специальность 1.5.4. «Биохимия» : диссертация ... кандидата биологических наук / Парфенов Андрей Анатольевич; ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». – Казань, 2023. – 154 с.

20. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени среди пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями / М. В. Есина, Л. М. Мосина, В. В. Столярова [и др.] // Материалы XXII научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов Национального исследовательского Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарёва : Сборник материалов конференции. В 3-х частях, Саранск, 25 сентября – 01. 2018 года / Составитель А.В. Столяров. Ответственный за выпуск П.В. Сенин. Том Часть 2. – Саранск: Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, 2019. – С. 294-297.

21. Роль кишечной микробиоты и ее метаболитов в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени / М. С. Решетова, О. Ю. Зольникова, В. Т. Ивашкин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2022. – Т. 32, № 5. – С. 75–88.

22. Саркарова, М.Р. Прогностическое значение показателя «отношение нейтрофилов к лимфоцитам» в клиническом течении цирроза печени / М.Р. Саркарова, М.В. Маевская // Медицинский совет. – 2024. – № 8. – С. 66-75.

23. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2026620805 Российская Федерация. База данных метаболомного профиля пациентов с алкогольной болезнью печени и неалкогольной жировой болезнью печени: № 026620443 : заявл. 16.02.2026 : опубл. 24.02.2026 / Ивашкин В. Т.,

Зольникова О. Ю., Решетова М. С., Апполонова С. А., Маркин П. А., Басханова С. Н., Самойлов В. М. // Федеральная служба по интеллектуальной собственности.

24. Синдром избыточного бактериального роста в практике врачей различных специальностей: обзор литературы и резолюция Экспертного совета / В. Т. Ивашкин, В. В. Фомин, О. Н. Ткачева [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2024. – Т. 34, № 2. – С. 14–34.

25. Туркина, А. А. Влияние альбумина на долгосрочный жизненный прогноз у пациентов с циррозом печени : специальность 3.1.30. «Гастроэнтерология и диетология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Туркина Анастасия Андреевна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). – Москва, 2023. – 134 с.

26. Цао, С. Метаболический синдром у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и алкогольной болезнью печени : специальность 3.1.30. «Гастроэнтерология и диетология» : диссертация ... кандидата медицинских наук / Цао Синьлу ; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2024. – 114 с.

27. Цирроз и фиброз печени: клинические рекомендации: возрастная группа: взрослые: год утверждения: 2025 / Российское общество по изучению печени [и др.] // Рубрикатор клинических рекомендаций / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – Москва, 2025. – URL: <https://base.garant.ru/412492662/> (дата обращения: 18.10.2025).

28. A review on human fecal metabolomics: Methods, applications and the human fecal metabolome database / N. Karu, L. Deng, M. Slae [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2018. – Vol. 1030. – P. 1–24.

29. A role for mitochondria in antigen processing and presentation / L. C. Bonifaz, M. P. Cervantes-Silva, E. Ontiveros-Dotor [et al.] // *Immunology*. – 2015. – Vol. 144, № 3. – P. 461–471.

30. A role for serotonin (5-HT) in hepatic stellate cell function and liver fibrosis / R. G. Ruddell, F. Oakley, Z. Hussain [et al.] // American Journal of Pathology. – 2006. – Vol. 169, № 3. – P. 861–876.
31. Acetyl-L-carnitine for patients with hepatic encephalopathy / A. J. Martí-Carvajal, C. Gluud, I. Arevalo-Rodriguez, C.E Martí-Amarista // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2019. – Vol. 1, № 1. – Article CD011451.
32. Acetyl-L-carnitine increases nerve regeneration and target organ reinnervation — a morphological study / A. D. Wilson, A. Hart, M. Wiberg [et al.] // Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery. – 2010. – Vol. 63, № 7. – P. 1186–1195.
33. Acetyl-L-carnitine restores synaptic transmission and enhances the inducibility of stable LTP after oxygen-glucose deprivation / K. Kocsis, R. Frank, J. Szabó [et al.] // Neuroscience. – 2016. – Vol. 332. – P. 203–211.
34. ACG Clinical Guideline: Alcoholic Liver Disease / A. K. Singal, R. Bataller, J. Ahn [et al.] // American Journal of Gastroenterology. – 2018. – Vol. 113, № 2. – P. 175–194.
35. Adverse outcomes after surgeries in patients with liver cirrhosis among Korean population: A population-based study / H. H. Jo, C. Min, D. S. Kyoung [et al.] // PLoS One. – 2021. – Vol. 16. – № 6. – P. e0253165.
36. Albillos, A. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy / A. Albillos, A. de Gottardi, M. Rescigno // Journal of Hepatology. – 2020. – Vol. 72, № 3. – P. 558–577.
37. Alcohol-associated liver disease: A review on its pathophysiology, diagnosis and drug therapy / V. Subramaniyan, S. Chakravarthi, R. Jegasothy [et al.] // Toxicology Reports. – 2021. – Vol. 8. – P. 376–385.
38. Alcohol-associated liver disease: Natural history, management and novel targeted therapies / E. Alvarado-Tapias, E. Pose, J. Gratacós-Ginès [et al.] // Clinical and Molecular Hepatology. – 2025. – Vol. 31, Suppl. – P. S112–S133.

39. Alcohol, Inflammation, and Microbiota in Alcoholic Liver Disease / M. Dukić, T. Radonjić, I. Jovanović [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 4. – Article 3735.
40. Alonso, A. Analytical methods in untargeted metabolomics: state of the art in 2015 / A. Alonso, S. Marsal, A. Julià // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2015. – Vol. 3. – Article 23.
41. Alterations in the gut microbiota and the efficacy of adjuvant probiotic therapy in liver cirrhosis / Z. Wu, H. Zhou, D. Liu [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2023. – Vol. 13. – Article 1218552.
42. Amin, F. U. Glycine inhibits ethanol-induced oxidative stress, neuroinflammation and apoptotic neurodegeneration in postnatal rat brain / F. U. Amin, S. A. Shah, M. O. Kim // *Neurochemistry International*. – 2016. – Vol. 96. – P. 1–12.
43. Amino acid metabolism, transport and signalling in the liver revisited / C. C. Paulusma, W. H. Lamers, S. Broer [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 2022. – Vol. 201. – Article 115074.
44. An adipo-biliary-uridine axis that regulates energy homeostasis / Y. Deng, Z. V. Wang, R. Gordillo [et al.] // *Science*. – 2017. – Vol. 355, № 6330. – Article eaaf5375.
45. An Essential Role of the Mitochondrial Electron Transport Chain in Cell Proliferation Is to Enable Aspartate Synthesis / K. Birsoy, T. Wang, W. W. Chen [et al.] // *Cell*. – 2015. – Vol. 162, № 3. – P. 540–551.
46. Aromatic amino acid metabolism during liver failure / C. H. Dejong, M. C. van de Poll, P. B. Soeters [et al.] // *The Journal of Nutrition*. – 2007. – Vol. 137, № 6 Suppl. 1. – P. 1579S–1585S.
47. Asymmetric dimethylarginine as marker and mediator in ischemic stroke / S. Chen, N. Li, M. Deb-Chatterji [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2012. – Vol. 13, № 12. – P. 15983–16004.
48. Asymmetric dimethylarginine in exhaled breath condensate and serum of children with asthma / S. Carraro, G. Giordano, G. Piacentini [et al.] // *Chest*. – 2013. – Vol. 144, № 2. – P. 405–410.

49. Bader, M. Inhibition of serotonin synthesis: A novel therapeutic paradigm / M. Bader // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2020. – Vol. 205. – Article 107423.
50. Baur, B. Biotin and biocytin uptake into cultured primary calf brain microvessel endothelial cells of the blood-brain barrier / B. Baur, E. R. Baumgartner // *Brain Research*. – 2000. – Vol. 858, № 2. – P. 348–355.
51. Bendahan, D. Comparative NMR and NIRS analysis of oxygen-dependent metabolism in exercising finger flexor muscles / D. Bendahan, B. Chatel, T. Jue // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. – 2017. – Vol. 313, № 6. – P. R740–R753.
52. Bender, D. A. Optimum nutrition: thiamin, biotin and pantothenate / D. A. Bender // *Proceedings of the Nutrition Society*. – 1999. – Vol. 58, № 2. – P. 427–433.
53. Beyoğlu, D. Metabolomic and Lipidomic Biomarkers for Premalignant Liver Disease Diagnosis and Therapy / D. Beyoğlu, J. R. Idle // *Metabolites*. – 2020. – Vol. 10, № 2. – Article 50.
54. Beyoğlu, D. The Metabolomic Footprint of Liver Fibrosis / D. Beyoğlu, Y. V. Popov, J. R. Idle // *Cells*. – 2024. – Vol. 13, № 15. – Article 1333.
55. Bianchi, V. Mammalian 5'-nucleotidases / V. Bianchi, J. Spychala // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278, № 47. – P. 46195–46198.
56. Bile acids associate with specific gut microbiota, low-level alcohol consumption and liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease / L. A. Adams, Z. Wang, C. Liddle [et al.] // *Liver International*. – 2020. – Vol. 40, № 6. – P. 1356–1365.
57. Böger, R. Dual role of the L-arginine-ADMA-NO pathway in systemic hypoxic vasodilation and pulmonary hypoxic vasoconstriction / R. Böger, J. Hannemann // *Pulmonary Circulation*. – 2020. – Vol. 10, № 2. – Article 2045894020918850.
58. Branched chain amino acids in hepatic encephalopathy and sarcopenia in liver cirrhosis / G. Marrone, A. Serra, L. Miele [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2023. – Vol. 29, № 19. – P. 2905–2915.

59. Brosnan, M. E. Formate: The Neglected Member of One-Carbon Metabolism / M. E. Brosnan, J. T. Brosnan // *Annual Review of Nutrition*. – 2016. – Vol. 36. – P. 369–388.
60. Butyrate enhances mitochondrial function during oxidative stress in cell lines from boys with autism / S. Rose, S. C. Bennuri, J. E. Davis [et al.] // *Translational Psychiatry*. – 2018. – Vol. 8, № 1. – Article 42.
61. Cansev, M. Uridine and cytidine in the brain: their transport and utilization / M. Cansev // *Brain Research Reviews*. – 2006. – Vol. 52, № 2. – P. 389–397.
62. Carnitine in Alcohol Use Disorders: A Scoping Review / A. B. Bota, J. G. Simmons, A. DiBattista, K. Wilson // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. – 2021. – Vol. 45, № 4. – P. 666–674.
63. Cellular and organismal function of choline metabolism / T. C. Kenny, S. Scharenberg, M. Abu-Remaileh [et al.] // *Nature Metabolism*. – 2025. – Vol. 7, № 1. – P. 35–52.
64. Changes in human hepatic metabolism in steatosis and cirrhosis / Z. Schofield, M. A. Reed, P. N. Newsome [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2017. – Vol. 23, № 15. – P. 2685–2695.
65. Chaurasia, B. Ceramides — Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders / B. Chaurasia, S. A. Summers // *Trends in Endocrinology and Metabolism*. – 2015. – Vol. 26, № 10. – P. 538–550.
66. Cheemerla, S. Global Epidemiology of Chronic Liver Disease / S. Cheemerla, M. Balakrishnan // *Clinical Liver Disease*. – 2021. – Vol. 17, № 5. – P. 365–370.
67. Cheng, Z. The role of gut microbiota, exosomes, and their interaction in the pathogenesis of ALD / Z. Cheng, L. Yang, H. Chu // *Journal of Advanced Research*. – 2025. – Vol. 72. – P. 353–367.
68. Chronic alcohol exposure stimulates adipose tissue lipolysis in mice: role of reverse triglyceride transport in the pathogenesis of alcoholic steatosis / W. Zhong, Y. Zhao, Y. Tang [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 2012. – Vol. 180, № 3. – P. 998–1007.

69. Circulating uridine dynamically and adaptively regulates food intake in humans / R. Hanssen, L. Rigoux, K. Albus [et al.] // *Cell Reports Medicine*. – 2023. – Vol. 4, № 1. – Article 100897.
70. Cirrhosis-associated immune dysfunction / A. Albillos, R. Martin-Mateos, S. Van der Merwe [et al.] // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2022. – Vol. 19, № 2. – P. 112–134.
71. Comparison of quantitative metabolite imaging tools and carbon-13 techniques for fluxomics / T. Niittylä, B. Chaudhuri, U. Sauer [et al.] // *Methods in Molecular Biology*. – 2009. – Vol. 553. – P. 355–372.
72. Cryptic proteolytic activity of dihydrolipoamide dehydrogenase / N. E. Babady, Y. P. Pang, O. Elpeleg [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2007. – Vol. 104, № 15. – P. 6158–6163.
73. Cushing's syndrome / A. Lacroix, R. A. Feelders, C. A. Stratakis [et al.] // *The Lancet*. – 2015. – Vol. 386, № 9996. – P. 913–927.
74. da Silva, R. P. One-Carbon Metabolism in Fatty Liver Disease and Fibrosis: One-Carbon to Rule Them All / R. P. da Silva, B. J. Eudy, R. Deminice // *The Journal of Nutrition*. – 2020. – Vol. 150, № 5. – P. 994–1003.
75. Ducker, G. S. One-Carbon Metabolism in Health and Disease / G. S. Ducker, J. D. Rabinowitz // *Cell Metabolism*. – 2017. – Vol. 25, № 1. – P. 27–42.
76. Effect of acetyl-L-carnitine on ethanol consumption and alcohol abstinence syndrome in rats / N.G.Mangano, G.Clementi, G. Costantino [et al.] // *Drugs Exp Clin Res*. – 2000. – Vol. 26. – № 1. – P. 7–12.
77. Effect of liver cirrhosis on phenylalanine and tyrosine metabolism / P. Tessari, M. Vettore, R. Millionini [et al.] // *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. – 2010. – Vol. 13, № 1. – P. 81–86.
78. Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule / J. M. Yabut, J. D. Crane, A. E. Green [et al.] // *Endocrine Reviews*. – 2019. – Vol. 40, № 4. – P. 1092–1107.

79. Endogenous ethanol produced by intestinal bacteria induces mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease / X. Chen, Z. Zhang, H. Li [et al.] // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. – 2020. – Vol. 35, № 11. – P. 2009–2019.
80. Excessive hepatic mitochondrial TCA cycle and gluconeogenesis in humans with nonalcoholic fatty liver disease / N. E. Sunny, E. J. Parks, J. D. Browning [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2011. – Vol. 14, № 6. – P. 804–810.
81. Fibroblast growth factor 21 as an emerging metabolic regulator: clinical perspectives / Y. C. Woo, A. Xu, Y. Wang, K.S. Lam // *Clinical Endocrinology*. – 2013. – Vol. 78, № 4. – P. 489–496.
82. Fischer, J. E. False neurotransmitters and hepatic failure / J. E. Fischer, R. J. Baldessarini // *The Lancet*. – 1971. – Vol. 2, № 7715. – P. 75–80.
83. Frontline Science: Acyl-CoA synthetase 1 exacerbates lipotoxic inflammasome activation in primary macrophages / G. Kalugotla, L. He, K. J. Weber [et al.] // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2019. – Vol. 106, № 4. – P. 803–814.
84. García-Martínez, R. Management of Hepatic Encephalopathy Associated with Advanced Liver Disease / R. García-Martínez, R. Diaz-Ruiz, M. Poncela // *Clinical Drug Investigation*. – 2022. – Vol. 42, Suppl. 1. – P. 5–13.
85. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention / Z. Younossi, Q. M. Anstee, M. Marietti [et al.] // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 11–20.
86. Glycine conjugation: importance in metabolism, the role of glycine N-acyltransferase, and factors that influence interindividual variation / C. P. Badenhurst, R. van der Sluis, E. Erasmus [et al.] // *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. – 2013. – Vol. 9, № 9. – P. 1139–1153.
87. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells / C. S. Reigstad, C. E. Salmonson, J. F. Rainey 3rd [et al.] // *FASEB Journal*. – 2015. – Vol. 29, № 4. – P. 1395–1403.
88. Gut Microbiota and Biomarkers of Intestinal Barrier Damage in Cirrhosis / I. Efremova, R. Maslennikov, O. Medvedev [et al.] // *Microorganisms*. – 2024. – Vol. 12, № 3. – Article 463.

89. Hajnajafi, K. Mass-spectrometry based metabolomics: an overview of workflows, strategies, data analysis and applications / K. Hajnajafi, M. A. Iqbal // *Proteome Science*. – 2025. – Vol. 23, № 1. – Article 5.
90. Hammerschmidt, P. Contribution of specific ceramides to obesity-associated metabolic diseases / P. Hammerschmidt, J. C. Brüning // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2022. – Vol. 79, № 8. – Article 395.
91. Harjumäki, R. CYP2E1 in Alcoholic and Non-Alcoholic Liver Injury. Roles of ROS, Reactive Intermediates and Lipid Overload / R. Harjumäki, C. S. Pridgeon, M. Ingelman-Sundberg // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 15. – Article 8221.
92. Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy / C. F. Rose, P. Amodio, J. S. Bajaj [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2020. – Vol. 73, № 6. – P. 1526–1547.
93. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022 / D. S. Wishart, A. Guo, E. Oler [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2022. – Vol. 50, № D1. – P. D622–D631.
94. Holeček, M. Branched-chain amino acids in health and disease / M. Holeček // *Nutrition & Metabolism*. – 2018. – Vol. 15. – Article 33.
95. Houten, S. M. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β -oxidation / S. M. Houten, R. J. Wanders // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. – 2010. – Vol. 33, № 5. – P. 469–477.
96. Impact of adolescents' binge drinking on blood chemistry / E. Pistritto, F. M. F. Schera, E. Vassilopoulou [et al.] // *European Journal of Pediatrics*. – 2025. – Vol. 184, № 1. – Article 77.
97. Improved enantiomer resolution and quantification of free D-amino acids in serum and urine by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry / M. C. Waldhier, M. F. Almstetter, N. Nürnberger [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2011. – Vol. 1218, № 28. – P. 4537–4544.
98. Integrative analysis of the gut microbiota and faecal and serum short-chain fatty acids and tryptophan metabolites in patients with cirrhosis and hepatic

encephalopathy / Q. Wang, C. Chen, S. Zuo [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 21, № 1. – Article 395.

99. Integrative metabolomic characterisation identifies altered portal vein serum metabolome contributing to human hepatocellular carcinoma / J. Liu, W. Geng, H. Sun [et al.] // *Gut*. – 2022. – Vol. 71, № 6. – P. 1203–1213.

100. Intermediate role of gut microbiota in vitamin B nutrition and its influences on human health / Z. Wan, J. Zheng, Z. Zhu [et al.] // *Frontiers in Nutrition*. – 2022. – Vol. 9. – Article 1031502.

101. Intrahepatic distribution of nerve fibers and alterations due to fibrosis in diseased liver / K. Mizuno, H. Haga, K. Okumoto [et al.] // *PLoS ONE*. – 2021. – Vol. 16, № 4. – Article e0249556.

102. Isakov, V. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: A story of muscle and mass / V. Isakov // *World Journal of Gastroenterology*. – 2025. – Vol. 31, № 20. – Article 105346.

103. James, J. H. Branched chain amino acids in hepatic encephalopathy / J. H. James // *American Journal of Surgery*. – 2002. – Vol. 183, № 4. – P. 424–429.

104. Johnson, C. H. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms / C. H. Johnson, J. Ivanisevic, G. Siuzdak // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2016. – Vol. 17, № 7. – P. 451–459.

105. Jong, C. J. The Role of Taurine in Mitochondria Health: More Than Just an Antioxidant / C. J. Jong, P. Sandal, S. W. Schaffer // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 16. – Article 4913.

106. Kisseleva, T. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression / T. Kisseleva, D. Brenner // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2021. – Vol. 18, № 3. – P. 151–166.

107. Kumar, R. Acute-on-chronic liver failure / R. Kumar, G. Mehta, R. Jalan // *Clinical Medicine (London)*. – 2020. – Vol. 20, № 5. – P. 501–504.

108. L-carnitine for the treatment of overt hepatic encephalopathy in patients with advanced liver cirrhosis / K. Tajiri, Y. Futsukaichi, S. Kobayashi [et al.] // *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. – 2018. – Vol. 64, № 5. – P. 321–328.

109. L-Ornithine-l-Aspartate (LOLA) Normalizes Metabolic Parameters in Models of Steatosis, Insulin Resistance and Metabolic Syndrome / A. Canbay, O. Götze, O. Kucukoglu [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2024. – Vol. 16, № 4. – Article 506.
110. León-Del-Río, A. Biotin in metabolism, gene expression, and human disease / A. León-Del-Río // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. – 2019. – Vol. 42, № 4. – P. 647–654.
111. Leptin Mediates a Glucose-Fatty Acid Cycle to Maintain Glucose Homeostasis in Starvation / R. J. Perry, Y. Wang, G. W. Cline [et al.] // *Cell*. – 2018. – Vol. 172, № 1–2. – P. 234–248.e17.
112. Liver diseases: epidemiology, causes, trends and predictions / C. Gan, Y. Yuan, H. Shen [et al.] // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2025. – Vol. 10. – Article 33.
113. Longo, N. Carnitine transport and fatty acid oxidation / N. Longo, M. Frigeni, M. Pasquali // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2016. – Vol. 1863, № 10. – P. 2422–2435.
114. Lu, S. C. S-adenosylmethionine in liver health, injury, and cancer / S. C. Lu, J. M. Mato // *Physiological Reviews*. – 2012. – Vol. 92, № 4. – P. 1515–1542.
115. Lynch, C. J. Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance / C. J. Lynch, S. H. Adams // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2014. – Vol. 10, № 12. – P. 723–736.
116. Malaguarnera, M. Acetyl-L-carnitine in hepatic encephalopathy / M. Malaguarnera // *Metabolic Brain Disease*. – 2013. – Vol. 28. – P. 193–199.
117. Marra, F. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis / F. Marra, G. Svegliati-Baroni // *Journal of Hepatology*. – 2018. – Vol. 68, № 2. – P. 280–295.
118. Mechanisms of hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methionine choline-deficient diet / M. E. Rinella, M. S. Elias, R. R. Smolak [et al.] // *Journal of Lipid Research*. – 2008. – Vol. 49, № 5. – P. 1068–1076.

119. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies / S. L. Friedman, B. A. Neuschwander-Tetri, M. Rinella [et al.] // *Nature Medicine*. – 2018. – Vol. 24, № 7. – P. 908–922.
120. Mechanistic insights into impaired β -oxidation and its role in mitochondrial dysfunction: A comprehensive review / A. Aqeel, A. Akram, M. Ali [et al.] // *Diabetes Research and Clinical Practice*. – 2025. – Vol. 223. – Article 112129.
121. Metabolic Hijacking of Hexose Metabolism to Ascorbate Synthesis Is the Unifying Biochemical Basis of Murine Liver Fibrosis / D. Beyoğlu, P. Huang, D. Skelton-Badlani [et al.] // *Cells*. – 2023. – Vol. 12, № 3. – Article 485.
122. Metabolome analysis for investigating host-gut microbiota interactions / M. X. Chen, S. Y. Wang, C. H. Kuo [et al.] // *Journal of the Formosan Medical Association*. – 2019. – Vol. 118, Suppl. 1. – P. S10–S22.
123. Metabolomic profiling reveals mitochondrial-derived lipid biomarkers that drive obesity-associated inflammation / B. P. Sampey, A. J. Freemerman, J. Zhang [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7, № 6. – Article e38812.
124. Metabolomics profiles in acute-on-chronic liver failure: Unveiling pathogenesis and predicting progression / G. Liu, X. Wang, X. Fan, X. Luo // *Frontiers in Pharmacology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 953297.
125. Microbiome therapeutics for hepatic encephalopathy / P. P. Bloom, E. B. Tapper, V. B. Young [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2021. – Vol. 75, № 6. – P. 1452–1464.
126. Microbiome-derived ethanol in nonalcoholic fatty liver disease / A. S. Meijnikman, M. Davids, H. Herrema [et al.] // *Nature Medicine*. – 2022. – Vol. 28, № 10. – P. 2100–2106.
127. Middleton, P. Mitochondrial dysfunction and liver disease: role, relevance, and potential for therapeutic modulation / P. Middleton, N. Vergis // *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. – 2021. – Vol. 14. – Article 17562848211031394.
128. Mitochondrial Dysfunction in Advanced Liver Disease: Emerging Concepts / I. W. Zhang, C. López-Vicario, M. Duran-Güell [et al.] // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2021. – Vol. 8. – Article 772174.

129. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy / Y. Zong, H. Li, P. Liao [et al.] // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2024. – Vol. 9, № 1. – Article 124.
130. Modulation of serotonin signaling/metabolism by *Akkermansia muciniphila* and its extracellular vesicles through the gut-brain axis in mice / R. Yaghoubfar, A. Behrouzi, F. Ashrafian [et al.] // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, № 1. – Article 22119.
131. Molecular mechanism and therapeutic significance of essential amino acids in metabolically associated fatty liver disease / Y. Deng, M. Hu, S. Huang [et al.] // *The Journal of Nutritional Biochemistry*. – 2024. – Vol. 126. – Article 109581.
132. Molecular Mechanisms of Glucocorticoid-Induced Insulin Resistance / C. Beaupere, A. Liboz, B. Fève [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 2. – Article 623.
133. Møller, S. The pathophysiology of arterial vasodilatation and hyperdynamic circulation in cirrhosis / S. Møller, F. Bendtsen // *Liver International*. – 2018. – Vol. 38, № 4. – P. 570–580.
134. mTORC1 is involved in the regulation of branched-chain amino acid catabolism in mouse heart / H. Zhen, Y. Kitaura, Y. Kadota [et al.] // *FEBS Open Bio*. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 43–49.
135. Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review / M. A. Razak, P. S. Begum, B. Viswanath [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2017. – Vol. 2017. – Article 1716701.
136. Muoio, D. M. Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes / D. M. Muoio, C. B. Newgard // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2008. – Vol. 9, № 3. – P. 193–205.
137. NAFLD and NASH: etiology, targets and emerging therapies / S. Wei, L. Wang, P. C. Evans [et al.] // *Drug Discovery Today*. – 2024. – Vol. 29, № 3. – Article 103910.
138. Neinast, M. Branched Chain Amino Acids / M. Neinast, D. Murashige, Z. Arany // *Annual Review of Physiology*. – 2019. – Vol. 81. – P. 139–164.

139. Nicolson, G. L. Metabolic syndrome and mitochondrial function: molecular replacement and antioxidant supplements to prevent membrane peroxidation and restore mitochondrial function / G. L. Nicolson // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2007. – Vol. 100, № 6. – P. 1352–1369.

140. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice / A. R. Mridha, A. Wree, A. A. B. Robertson [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2017. – Vol. 66, № 5. – P. 1037–1046.

141. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment / X. Guo, X. Yin, Z. Liu [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 24. – Article 15489.

142. One Carbon Metabolism and S-Adenosylmethionine in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Pathogenesis and Subtypes / D. Fernández-Ramos, F. Lopitz-Otsoa, O. Millet [et al.] // *Livers*. – 2022. – Vol. 2, № 4. – P. 243–257.

143. Oral uridine-5'-monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils / M. Cansev, C. J. Watkins, E. M. van der Beek [et al.] // *Brain Research*. – 2005. – Vol. 1058, № 1–2. – P. 101–108.

144. Orchestration of Tryptophan-Kynurenine Pathway, Acute Decompensation, and Acute-on-Chronic Liver Failure in Cirrhosis / J. Clària, R. Moreau, F. Fenaille [et al.] // *Hepatology*. – 2019. – Vol. 69, № 4. – P. 1686–1701.

145. Ostojic, S. M. Plasma creatine as a marker of mitochondrial dysfunction / S. M. Ostojic // *Medical Hypotheses*. – 2018. – Vol. 113. – P. 52–53.

146. Pathogenic mechanisms and regulatory factors involved in alcoholic liver disease / C. Yan, W. Hu, J. Tu [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 21, № 1. – Article 300.

147. Pathophysiological Role of Peroxynitrite Induced DNA Damage in Human Diseases: A Special Focus on Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) / B. U. Islam, S. Habib, P. Ahmad [et al.] // *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. – 2015. – Vol. 30, № 4. – P. 368–385.

148. Pathophysiology of decompensated cirrhosis: Portal hypertension, circulatory dysfunction, inflammation, metabolism and mitochondrial dysfunction / C.

Engelmann, J. Clària, G. Szabo [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2021. – Vol. 75, Suppl. 1. – P. S49–S66.

149. Polyzos, S. A. Role of Glucocorticoids in Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease / S. A. Polyzos, G. Targher // *Current Obesity Reports*. – 2024. – Vol. 13, № 2. – P. 242–255.

150. Probiotics in hepatology: An update / R. Maslennikov, V. Ivashkin, I. Efremova [et al.] // *World Journal of Hepatology*. – 2021. – Vol. 13, № 9. – P. 1154–1166.

151. Protein arginine methyltransferases: promising targets for cancer therapy / J. W. Hwang, Y. Cho, G. U. Bae [et al.] // *Experimental & Molecular Medicine*. – 2021. – Vol. 53, № 5. – P. 788–808.

152. Pyrimidine pathways in health and disease / M. Löffler, L. D. Fairbanks, E. Zameitat [et al.] // *Trends in Molecular Medicine*. – 2005. – Vol. 11, № 9. – P. 430–437.

153. Quantitative Fluxomics of Circulating Metabolites / S. Hui, A. J. Cowan, X. Zeng [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2020. – Vol. 32, № 4. – P. 676–688.e4.

154. Rasouli, M. Liver denervation increases the levels of serum triglyceride and cholesterol via increases in the rate of VLDL secretion / M. Rasouli, M. Mosavi-Mehr, H. Tahmouri // *Clinical Research in Hepatology and Gastroenterology*. – 2012. – Vol. 36, № 1. – P. 60–65.

155. Rasouli, M. Suppression of VLDL associated triacylglycerol secretion by both alpha- and beta-adrenoceptor agonists in isolated rat hepatocytes / M. Rasouli, M. Zahraie // *European Journal of Pharmacology*. – 2006. – Vol. 545, № 2–3. – P. 109–114.

156. Recent Advances in Understanding of Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease / X. Wu, X. Fan, T. Miyata [et al.] // *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. – 2023. – Vol. 18. – P. 411–438.

157. Regulation of hepatic mitochondrial oxidation by glucose-alanine cycling during starvation in humans / K. F. Petersen, S. Dufour, G. W. Cline [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2019. – Vol. 129, № 11. – P. 4671–4675.

158. Regulation of lipolysis in adipocytes / R. E. Duncan, M. Ahmadian, K. Jaworski [et al.] // *Annual Review of Nutrition*. – 2007. – Vol. 27. – P. 79–101.

159. Relative importance of liver, kidney, and substrates in epinephrine-induced increased gluconeogenesis in humans / C. Meyer, M. Stumvoll, S. Welle [et al.] // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. – 2003. – Vol. 285, № 4. – P. E819–E826.
160. Reshetnyak, V. I. Physiological and molecular biochemical mechanisms of bile formation / V. I. Reshetnyak // *World Journal of Gastroenterology*. – 2013. – Vol. 19, № 42. – P. 7341–7360.
161. Reuter, S. E. Long-chain acylcarnitine deficiency in patients with chronic fatigue syndrome. Potential involvement of altered carnitine palmitoyltransferase-I activity / S. E. Reuter, A. M. Evans // *Journal of Internal Medicine*. – 2011. – Vol. 270, № 1. – P. 76–84.
162. Reversibility of increased formation of catecholamines in patients with alcoholic liver disease / A. Parlesak, C. Reisenauer, J. Biermann [et al.] // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. – 2004. – Vol. 39, № 1. – P. 60–66.
163. Roberts, K. M. Kinetic mechanism of phenylalanine hydroxylase: intrinsic binding and rate constants from single-turnover experiments / K. M. Roberts, J. A. Pavon, P. F. Fitzpatrick // *Biochemistry*. – 2013. – Vol. 52, № 6. – P. 1062–1073.
164. Said, H. M. Gastrointestinal Handling of Water-Soluble Vitamins / H. M. Said, E. Nexø // *Comprehensive Physiology*. – 2018. – Vol. 8, № 4. – P. 1291–1311.
165. Sakhuja, P. Pathology of alcoholic liver disease, can it be differentiated from nonalcoholic steatohepatitis? / P. Sakhuja // *World Journal of Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 20, № 44. – P. 16474–16479.
166. Serotonin deficiency exacerbates acetaminophen-induced liver toxicity in mice / J. Zhang, S. Song, Q. Pang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – Article 8098.
167. Serotonin: a double-edged sword for the liver? / M. Lesurtel, C. Soll, B. Humar, P. A. Clavien // *The Surgeon*. – 2012. – Vol. 10, № 2. – P. 107–113.
168. Serum fibroblast growth factor 21 and growth differentiation factor 15: Two sensitive biomarkers in the diagnosis of mitochondrial disorders / A. Huddar, P. Govindaraj, S. Chiplunkar [et al.] // *Mitochondrion*. – 2021. – Vol. 60. – P. 170–177.

169. Serum Metabolomic Profiling Identifies Key Metabolic Signatures Associated With Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease in Humans / Z. Yang, P. Kusumanchi, R. A. Ross [et al.] // *Hepatology Communications*. – 2019. – Vol. 3, № 4. – P. 542–557.

170. Serum Metabolomic Profiling in Acute Alcoholic Hepatitis Identifies Multiple Dysregulated Pathways / V. Rachakonda, C. Gabbert, A. Raina [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 12. – Article e113860.

171. Sharma, S. Carnitine homeostasis, mitochondrial function, and cardiovascular disease / S. Sharma, S. M. Black // *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. – 2009. – Vol. 6, № 1–4. – P. e31–e39.

172. Shayota, B. J. Biomarkers of mitochondrial disorders / B. J. Shayota // *Neurotherapeutics*. – 2024. – Vol. 21, № 1. – Article e00325.

173. Structure, Function, and Activity of Small Molecule and Peptide Inhibitors of Protein Arginine Methyltransferase 1 / T. Hendrickson-Rebizant, S. R. N. Sudhakar, M. J. Rowley [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 2024. – Vol. 67, № 18. – P. 15931–15946.

174. Sympathetic nervous system activation and heart failure: Current state of evidence and the pathophysiology in the light of novel biomarkers / J. A. Borovac, D. D'Amario, J. Bozic [et al.] // *World Journal of Cardiology*. – 2020. – Vol. 12, № 8. – P. 373–408.

175. Systematic review with meta-analysis: risk of hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis without cirrhosis compared to other liver diseases / J. G. Stine, B. J. Wentworth, A. Zimmet [et al.] // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2018. – Vol. 48, № 7. – P. 696–703.

176. Tain, Y. L. Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA) / Y. L. Tain, C. N. Hsu // *Toxins*. – 2017. – Vol. 9, № 3. – Article 92.

177. Takeda, Y. Functional roles of pantothenic acid, riboflavin, thiamine, and choline in adipocyte browning in chemically induced human brown adipocytes / Y. Takeda, P. Dai // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14, № 1. – Article 18252.

178. Tan, E. Y. Metabolomics at the cutting edge of risk prediction of MASLD / E. Y. Tan, M. D. Muthiah, A. J. Sanyal // *Cell Reports Medicine*. – 2024. – Vol. 5, № 12. – Article 101853.

179. Taurine and its analogs in neurological disorders: Focus on therapeutic potential and molecular mechanisms / M. Jakaria, S. Azam, M. E. Haque [et al.] // *Redox Biology*. – 2019. – Vol. 24. – Article 101223.

180. Tebani, A. Advances in metabolome information retrieval: turning chemistry into biology. Part I: analytical chemistry of the metabolome / A. Tebani, C. Afonso, S. Bekri // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. – 2018. – Vol. 41, № 3. – P. 379–391.

181. Teunis, C. Interactions between Tryptophan Metabolism, the Gut Microbiome and the Immune System as Potential Drivers of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Metabolic Diseases / C. Teunis, M. Nieuwdorp, N. Hanssen // *Metabolites*. – 2022. – Vol. 12, № 6. – Article 514.

182. The gut-brain axis underlying hepatic encephalopathy in liver cirrhosis / X. He, M. Hu, Y. Xu [et al.] // *Nature Medicine*. – 2025. – Vol. 31, № 2. – P. 627–638.

183. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon / D. R. Donohoe, N. Garge, X. Zhang [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2011. – Vol. 13, № 5. – P. 517–526.

184. The role of Branched Chain Amino Acids in the treatment of hepatic encephalopathy / G. Dam, L. Aamann, H. Vistrup, L.L. Gluud // *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. – 2018. – Vol. 8, № 4. – P. 448–451.

185. The Role of Catecholamines in Pathophysiological Liver Processes / E. Lelou, A. Corlu, N. Nessler [et al.] // *Cells*. – 2022. – Vol. 11, № 6. – Article 1021.

186. The Role of Gut-Derived Lipopolysaccharides and the Intestinal Barrier in Fatty Liver Diseases / L. An, U. Wirth, D. Koch [et al.] // *Journal of Gastrointestinal Surgery*. – 2022. – Vol. 26, № 3. – P. 671–683.

187. The Whole Story About Fenestrations in LSEC / K. Szafrńska, L. D. Kruse, C. F. Holte [et al.] // *Frontiers in Physiology*. – 2021. – Vol. 12. – Article 735573.

188. Toll-like receptor 4 is a therapeutic target for prevention and treatment of liver failure / C. Engelmann, M. Sheikh, S. Sharma [et al.] // *Journal of Hepatology*. – 2020. – Vol. 73, № 1. – P. 102–112.
189. Toll-Like Receptors Recognize Intestinal Microbes in Liver Cirrhosis / Y. Fan, Y. Li, Y. Chu [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – Article 608498.
190. Tryptophan Metabolism and Gut-Brain Homeostasis / W. Roth, K. Zadeh, R. Vekariya [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 6. – Article 2973.
191. Tryptophan Metabolites in the Progression of Liver Diseases / M. Reshetova, P. Markin, S. Appolonova [et al.] // *Biomolecules*. – 2024. – Vol. 14, № 11. – Article 1449.
192. Vitamin Supplements as a Nutritional Strategy against Chronic Alcohol Consumption? An Updated Review / C. Sandoval, J. Farías, M. Zamorano [et al.] // *Antioxidants*. – 2022. – Vol. 11, № 3. – Article 564.
193. Weinberg, S. E. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity / S. E. Weinberg, L. A. Sena, N. S. Chandel // *Immunity*. – 2015. – Vol. 42, № 3. – P. 406–417.
194. Wu, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition / G. Wu // *Amino Acids*. – 2009. – Vol. 37, № 1. – P. 1–17.
195. Zhu, X. Research reviews and prospects of gut microbiota in liver cirrhosis: a bibliometric analysis (2001–2023) / X. Zhu, Z. Zhou, X. Pan // *Frontiers in Microbiology*. – 2024. – Vol. 15. – Article 1342356.