УДК 616.379-008.64:616.36-002 DOI: 10.18699/SSMJ20230618
Оригинальное исследование / Research article

Уровень белков, вовлеченных в апоптоз и аутофагию, в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени

Я.А. Краснер[1, 2], В.В. Романов[1], О.Н. Фазуллина[1], М.Ф. Осипенко[2], В.В. Климонтов[1]

[1] НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2
[2] Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Резюме

Цель исследования – изучить уровень в сыворотке крови молекул, вовлеченных в аутофагию и апоптоз: белка, ассоциированного с микротрубочками LC3alpha (MAP1LC3alpha), беклина-1 (BECN-1), Bcl-2 (BCL-2), каспазы-3 (CASP3) и белка, связанного с аутофагией-5 (ATG-5), и определить его ассоциацию с фиброзом печени у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). **Материал и методы.** Выполнено одноцентровое поперечное наблюдательное исследование. Включено 74 пациента с СД2 и НАЖБП, 23 мужчины и 51 женщина, в возрасте от 18 до 74 лет. Для диагностики фиброза печени применяли фиброэластометрию, его выраженность оценивали по шкале Metavir. Рассчитывали непрямые индексы фиброза печени APRI и FIB-4. Концентрацию MAP1LC3alpha, BECN-1, BCL-2, CASP3 и ATG-5 в сыворотке крови определяли с помощью ИФА. Для оценки ценности данных показателей для диагностики фиброза печени применяли ROC-анализ. **Результаты**. Фиброз печени 1-й стадии диагностирован у 16 человек, 2-й стадии – у 12, 3-й стадии – у 7, 4-й стадии – у 19 человек. У пациентов с выраженным фиброзом печени (стадии 3–4) по сравнению с лицами без выраженного фиброза (стадии 0–2) наблюдалась более высокая концентрация MAP1LC3alpha (p = 0,01) и BECN-1 (p = 0,01), значимых различий по содержанию BCL-2, ATG-5, CASP3 не выявлено. В ROC-анализе MAP1LC3alpha и BECN-1 показали значимость для диагностики выраженного фиброза печени, которая, однако, не превышала таковую у индекса APRI. **Заключение**. У больных СД2 и НАЖБП уровень MAP1LC3alpha и BECN-1 в сыворотке крови ассоциирован с выраженным фиброзом печени (3–4-я стадия по Metavir).

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени, фиброз печени, биомаркер, апоптоз, аутофагия, фиброэластометрия печени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена за счет средств государственного задания НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН.

Автор для переписки: Климонтов В.В., e-mail: klimontov@mail.ru

Для цитирования: Краснер Я.А., Романов В.В., Фазуллина О.Н., Осипенко М.Ф., Климонтов В.В. Уровень белков, вовлеченных в апоптоз и аутофагию, в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени**.** *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(6):148–154. doi: 10.18699/SSMJ20230618

Serum level of proteins involved in apoptosis and autophagy in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease

Ya.A. Krasner[1, 2], V.V. Romanov[1], O.N. Fazullina[1], M.F. Osipenko[2], V.V. Klimontov[1]

[1] Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakova st., 2
[2] Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

Aim of the study was to estimate the blood serum level of microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha (MAP1LC3alpha), beclin-1 (BECN-1), Bcl-2 (BCL-2), caspase-3 (CASP3) and autophagy related 5 (ATG-5) protein as potential markers of liver fibrosis in type 2 diabetes (T2D) patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Material and methods.** A single center cross-sectional observational study was performed. Seventy four patients with T2D and NAFLD were included, 23 men and 51 women, aged 18 to 74 years. Transient elastography was used for the assessment of liver fibrosis. The severity of fibrosis was estimated using the Metavir score. In addition, indirect liver fibrosis indices APRI and FIB-4 were calculated. Serum concentration of MAP1LC3alpha, BECN-1, BCL-2, CASP and ATG-5 was measured by ELISA. We applied ROC analysis to assess the value of studied indicators in diagnosis of liver fibrosis. **Results.** Liver fibrosis stage F1 was verified in 16 subjects, stage F2 in 12, stage F3 in 7, and stage F4 in 19 individuals. Patients with advanced liver fibrosis (stage 3-4) when compared to those without fibrosis (stage 0–2) had higher content of MAP1LC3alpha ($p = 0.01$) and BECN-1 ($p = 0.01$). There were no significant differences in the level of BCL-2, CASP3 and ATG-5 between patients with different severity of fibrosis. In the ROC analysis, MAP1LC3alpha and BECN-1 showed significance for the diagnosis of severe liver fibrosis, which, however, did not exceed that of the APRI index. **Conclusions.** In patients with T2D and NAFLD, serum levels of MAP1LC3alpha and BECN-1 are associated with severe liver fibrosis.

Key words: diabetes mellitus type 2, non-alcoholic fatty liver disease, liver fibrosis, biomarker, apoptosis, autophagy, transient liver elastography.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Financing: The work was carried out at the expense of the state task of the Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS.

Correspondence author: Klimontov V.V., e-mail: klimontov@mail.ru

Citation: Krasner Ya.A., Romanov V.V., Fazullina O.N., Osipenko M.F., Klimontov V.V. Serum levels of proteins involved in apoptosis and autophagy in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2023;43(6):148–154. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230618

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является одним из наиболее распространенных заболеваний печени. В настоящее время продолжается поиск информативных диагностических маркеров, позволяющих выявлять фиброз печени при НАЖБП на ранних стадиях, и активное изучение патогенеза НАЖБП. В последние годы в механизмах развития данного заболевания большую роль отводят процессам аутофагии и апоптоза.

Аутофагия – важный процесс, поддерживающий клеточный гомеостаз. Ее суть заключается в разрушении поврежденных органелл с последующим повторным использованием высвободившегося пластического материала. Проводится изучение роли молекул, вовлеченных в процессы аутофагии, в развитии заболеваний печени. Описаны противоположные эффекты данного процесса в отношении фиброгенеза и развития воспаления в ткани печени [1]. Существуют работы, демонстрирующие протективную роль процессов аутофагии в отношении формирования стеатогепатита и фиброза печени при НАЖБП [2], однако есть сведения и об обратном [3]. Также имеются данные о том, что активность процессов аутофагии может меняться в зависимости от стадии заболевания печени, в частности НАЖБП [4]. В связи с этим молекулы, участвующие в процессе аутофагии, рассматриваются как потенциальные терапевтические цели, а также диагностические маркеры процессов фиброза и воспаления в печени.

Ряд работ последних лет был посвящен изучению роли белка, связанного с аутофагией-5 (ATG-5), в развитии фиброза печени. Данная молекула играет важную роль в процессе аутофагии, поскольку участвует в формировании аутофагосом. Существуют сведения о возможности применения ATG-5 в качестве терапевтической цели при лечении и профилактике развития фиброза печени, однако данные исследования проводились на мышах или на клеточных культурах [5, 6]. Еще одной молекулой, участвующей в формировании аутофагосом, является белок, ассоциированный с микротрубочками (MAP1LC3alpha) [7]. У мышей с индуцированным стеатозом печени наблюдается снижение экспрессии MAP1LC3alpha [8], однако клиническое значение этого белка остается неясным.

Беклин (BECN-1) также играет важную роль в регуляции аутофагии, а также координации процессов аутофагии и апоптоза, что достигается взаимодействием между BECN-1 и ингибитором апоптоза Bcl-2 (BCL-2). Роль обеих молекул в развитии заболеваний печени активно изучается [9, 10], показана перспективность применения

BECN-1 как маркера прогноза возможных исходов заболеваний печени. Существует ряд работ, демонстрирующих значение разных уровней экспрессии BECN-1 в тканях печени в развитии гепатоцеллюлярной карциномы, в том числе у больных циррозом печени [11, 12].

Каспаза-3 (CASP3), как и многие другие представители данного семейства протеолитических ферментов, участвует в процессах апоптоза и относится к группе эффекторных каспаз [13]. Имеются сведения о том, что CASP3 играет существенную роль в активации фиброгенеза и в целом обладает провоспалительным потенциалом при неалкогольном стеатогепатите [14].

Целью работы стало изучение клинического значения определения уровня белков, вовлеченных в процессы аутофагии и апоптоза (MAP1LC3alpha, BECN-1, BCL-2, CASP3 и ATG-5), в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) с НАЖБП.

Материал и методы

Исследование являлось одноцентровым, одномоментным, поперечным. Включались пациенты с СД2, проходившие лечение в эндокринологическом отделении клиники НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН) в 2022–2023 гг. Критерии включения: возраст от 18 лет, диагноз СД2, диагноз НАЖБП, наличие письменного информированного согласия на участие в исследовании; критерии исключения: иные диагностированные заболевания печени, в том числе вирусные гепатиты В и С, алкогольная болезнь печени, гемохроматоз, аутоиммунный гепатит, болезнь Вильсона–Коновалова, дефицит альфа-1-антитрипсина, беременность, терминальная стадия хронической болезни почек, злокачественные новообразования.

Участникам исследования проводилось клиническое обследование, лабораторные, инструментальные исследования в соответствии с алгоритмами оказания специализированной медицинской помощи больным СД [15]. Оценка употребления алкоголя выполнялась при помощи опросника AUDIT [16].

Диагноз НАЖБП устанавливался по данным УЗИ печени в соответствии с киническими рекомендациями Российской гастроэнтерологической ассоциации [17]. В качестве референсного метода оценки стадии фиброза печени применялась фиброэластометрия. Исследование выполнялось на аппарате FibroScan 502 Touch (Echosens, Франция) в ФГБНУ НИИ нейронаук и медицины (г. Новосибирск). Данные фиброэластометрии интерпретировались в соответствии со степенью фиброза по Metavir с применением референсных значений L. Castera [18]. Клинические данные не были доступны операторам, выполнявшим фиброэластометрию и ИФА уровня маркеров фиброза. Исследование одобрено Этическим комитетом НИИКЭЛ – филиала ИЦиГ СО РАН (протокол № 172 от 28.04.2022).

Биохимические исследования, такие как определение активности АлАТ и АсАТ, щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), содержания гликированного гемоглобина A1c (HbA1c), компонентов липидного спектра, проводили на анализаторе AU-480 (Beckman-Coulter, Япония) с использованием тест-систем компании-производителя. Образцы крови для определения биомаркеров брали из локтевой вены натощак, полученную сыворотку замораживали и хранили при –30 °С до проведения исследования. Концентрацию CASP-3, MAP1LC3alpha, BECN-1, BCL-2 и ATG-5 определяли методом ИФА на 8-канальном микропланшетном фотометре «Реал Р» («Вектор-Бест-Балтика», Россия) с помощью тест-систем фирмы Cloud Clone Corp. (Китай) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя тест-систем.

Рассчитывали неинвазивные индексы фиброза печени APRI и FIB-4 в соответствии со следующими формулами [19, 20]:

$$APRI = \frac{\dfrac{Активность\ АсАТ\ (МЕ/л)}{(Верхняя\ граница\ нормы\ АсАТ)} \times 100}{Количество\ тромбоцитов\ (10^9/л)};$$

$$FIB4 = \frac{Возраст\ (лет) \times активность\ АсАТ\ (МЕ/л)}{Количество\ тромбоцитов\ (10^9/л) \times Активность\ АлАТ\ (МЕ/л)}.$$

При изучении литературы не удалось найти достаточного объема предварительных данных по исследуемой проблеме. В связи с этим минимальный объем выборки рассчитывался в соответствии с методом К.А. Отдельновой [21]. В качестве критического уровня статистической значимости было выбрано значение $p < 0{,}05$, для которого при проведении пилотных исследований минимальный объем выборки $n = 44$.

При проведении статистического анализа данных распределение значений количественных показателей оценивалось на нормальность. При характере распределения, отличном от нормального, количественные параметры представлены в виде Me [Q_1–Q_3], где Me – медиана, Q_1–Q_3 – межквартильный размах; для их сравнения в разных группах больных применялся критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$. Для оценки

связи количественных показателей применялся корреляционный анализ Спирмена. Ассоциация двух качественных показателей оценивалась при помощи четырехпольных таблиц сопряженности с подсчетом отношения шансов (OR) и 95%-го доверительного интервала (95 % CI), а также критерия Пирсона. Для оценки чувствительности и специфичности сывороточных маркеров в отношении диагностики фиброза печени строились ROC-кривые с определением площади под кривой (AUC).

Результаты и их обсуждение

В исследование включено 74 пациента с СД2, 23 мужчины и 51 женщина, от 18 до 74 лет (медиана – 56 лет). Длительность течения СД с момента постановки диагноза составляла от 1 до 41 года (Me 11 лет). Все больные на момент включения в исследование получали сахароснижающую терапию: 12 человек – только инсулин, 28 – инсулин и пероральные сахароснижающие препараты, 34 – только пероральные сахароснижающие препараты. Терапию метформином получали 64 пациента, препаратами сульфонилмочевины – 20, ингибиторами натрий-глюкозного котраспортера-2 – 18, ингибиторами дипептидилпептидазы – 7, аналогами глюкагоноподобного пептида-1 – 3. Уровень HbA1c варьировал от 5,4 до 13,6 % (Me 8,3 %).

У 7 больных отмечалось избыточная масса тела, у остальных – ожирение (n = 67). Спектр осложнений и ассоциированных состояний включал диабетическую ретинопатию (n = 18), хроническую болезнь почек (n = 44), диабетическую нейропатию (n = 54), артериальную гипертензию (n = 67), ишемическую болезнь сердца (n = 17), атеросклероз сосудов нижних конечностей (n = 11), дислипидемию (n = 73).

У 20 больных, включенных в исследование, не выявлено признаков фиброза печени по данным фиброэластометрии. Фиброз 1-й стадии верифицирован у 16 человек, фиброз 2-й стадии – у 12, фиброз 3-й стадии – у 7, фиброз 4-й стадии – у 19. Между группами больных без выраженного фиброза печени (0-й, 1-й и 2-й стадии) и с выраженным фиброзом (3-й и 4-й стадии) не выявлено достоверных различий по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), соотношению окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ), длительности СД, уровню HbA1c, липидов и мочевой кислоты (табл. 1). Активность АлАТ, АсАТ, ЩФ, ГГПТ, а также значения индексов APRI и FIB4 были достоверно больше у больных с фиброзом.

Таблица 1. *Клиническая характеристика больных СД2 и НАЖБП с различной выраженностью фиброза печени*

Table 1. *Clinical characteristics of patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease depending on liver fibrosis*

Параметр	Больные с выраженным фиброзом (n = 26)	Больные без выраженного фиброза (n = 48)	p
Возраст, лет	53 [44; 61]	57 [52; 63]	0,12
ИМТ, кг/м^2	39,4 [33,8; 49,1]	37,1 [31,9; 44,23]	0,18
ОТ/ОБ	0,9 [0,9; 0,98]	0,98 [0,9; 1,04]	0,26
Длительность СД, годы	8,5 [2,0; 15,0]	12,5 [6,0; 16,0]	0,28
Содержание HbA1c, %	7,9 [7,2; 9,4]	8,3 [6,5; 10,0]	0,76
Содержание общего холестерина, ммоль/л	4,8 [4,15; 5,69]	4,9 [3,8; 6,0]	0,44
Содержание холестерина ЛПНП, ммоль/л	3,1 [2,7; 4,1]	3,3 [2,5; 4,0]	0,8
Содержание холестерина ЛПВП, ммоль/л	1,11 [0,88; 1,36]	1,1 [0,96; 1,31]	0,6
Содержание триглицеридов, ммоль/л	2,4 [1,8; 3,4]	1,8 [1,2; 3,2]	0,17
Содержание мочевой кислоты, мкмоль/л	389 [246; 442]	336 [286; 426]	0,8
рСКФ, мл/мин/1,73 м^2	86 [61; 97]	72 [58; 91]	0,24
Активность АлАТ, ЕД/л	52 [24; 102]	27 [17; 45]	0,006
Активность АсАТ АСТ, ЕД/л	45 [27; 97]	25 [19; 36]	0,0002
Активность ЩФ, ЕД/л	90 [75; 144]	72 [62; 91]	0,003
Активность ГГТП, ЕД/л	60 [49; 112]	33 [19; 47]	0,0001
Содержание общего билирубина, мкмоль/л	13,7 [11,0; 21,5]	12,3 [10,2; 18,6]	0,14
APRI	0,53 [0,31; 1,41]	0,23 [0,17; 0,40]	0,0007
FIB4	1,80 [1,03; 3,80]	1,13 [0,84; 1,51]	0,004

Примечание: ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации (по CKD-EPI).

В сыворотке больных НАЖБП с выраженным фиброзом печени (стадия 3–4) по сравнению с больными без выраженного фиброза (стадия 0–2) было больше содержание MAP1LC3alpha и BECN1, а также прослеживалась тенденция к более высокому уровню CASP3 (табл. 2). Статистически значимых различий в концентрации BCL-2 и ATG-5 не наблюдалось.

При корреляционном анализе наблюдалась положительная связь между уровнем BCL-2 и BECN-1 ($r = 0{,}55$, $p < 0{,}0001$). Концентрация MAP1LC3alpha и BCL-2 положительно коррелировала с содержанием ЛПВП ($r = 0{,}36$, $p = 0{,}002$ и $r = 0{,}26$, $p = 0{,}003$ соответственно) и отрицательно – с уровнем триглицеридов ($r = –0{,}30$, $p = 0{,}009$ и $r = –0{,}31$, $p = 0{,}007$ соответственно). Также отмечалась отрицательная зависимость между концентрацией MAP1LC3alpha и соотношением ОТ/ОБ ($r = –0{,}51$, $p < 0{,}0001$). Не выявлено корреляций между содержанием исследованных молекул и возрастом пациентов, ИМТ и уровнем HbA1c.

Анализ ROC-кривых (рисунок, табл. 3) ожидаемо продемонстрировал более высокую диагностическую чувствительность традиционно применяемых неинвазивных индексов фиброза FIB-4 и APRI по сравнению с уровнем исследуемых молекул в отношении диагностики выраженного фиброза печени. При этом индекс APRI превосходил данные молекулы и по специфичности. Определенную диагностическую ценность в отношении диагностики выраженного фиброза печени продемонстрировали MAP1LC3alpha и BECN-1.

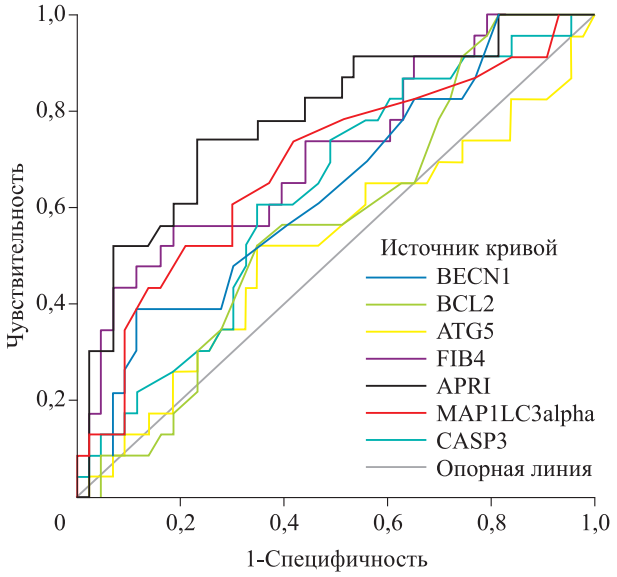
Наше исследование имеет ряд ограничений. Его одномоментный дизайн не позволяет однозначно судить о причинно-следственных связях между признаками. Исследование биомаркеров проведено в гетерогенной по клиническим признакам (включая тяжесть и длительность течения сочетанных заболеваний, качество гликемического контроля) выборке пациентов. Данная разнородность могла оказать определенное влияние на уровень исследованных биомаркеров. Относительно небольшой объем выборки не позволяет исключить вероятность того, что некоторые различия между группами остались невыявленными.

Вместе с тем в данной работе впервые проведено сопоставление уровня в сыворотке крови молекул, вовлеченных в процессы апоптоза и аутофагии, с инструментальными и лабораторными индикаторами фиброза печени у больных СД2 и НАЖБП. Результаты указывают на ассоциацию уровня BECN-1 и MAP1LC3alpha и, возможно CASP-3, с выраженностью фиброза печени. Роль данных молекул в патогенезе НАЖБП и их возможное прогностическое значение нуждаются в дальнейших исследованиях.

Таблица 2. *Уровень молекул, ассоциированных с аутофагией и апоптозом, в сыворотке крови у больных СД2 и НАЖБП в зависимости от выраженности фиброза печени*

Table 2. *Serum level of molecules associated with autophagy and apoptosis in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease depending on liver fibrosis*

Молекула, содержание	Больные с выраженным фиброзом ($n = 26$)	Больные без выраженного фиброза ($n = 48$)	p
MAP1LC3alpha, нг/мл	3,86 [3,48; 4,18]	3,48 [3,33; 3,79]	0,01
BECN-1, нг/мл	4,62 [4,33; 5,08]	4,37 [4; 4,46]	0,01
CASP3, нг/мл	8,2 [11,6; 22,1]	7,5 [6,36; 9,75]	0,1
BCL-2, нг/мл	3,3 [2,93; 3,83]	3,6 [3,15; 3,83]	0,21
ATG-5, нг/мл	14,8 [11,7; 19,0]	14,8 [11,6; 22,1]	0,48



ROC-анализ непрямых сывороточных маркеров фиброза и молекул, ассоциированных с аутофагией и апоптозом, в диагностике выраженного фиброза печени у больных СД2 и НАЖБП

ROC-analysis of indirect serum markers of fibrosis and molecules associated with autophagy and apoptosis in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease

Таблица 3. *Сравнительная характеристика ценности молекул, ассоциированных с аутофагией и апоптозом, и непрямых сывороточных маркеров фиброза в диагностике выраженного фиброза печени у больных СД2 и НАЖБП*

Table. 3. *Comparative characteristics of the value of molecules associated with autophagy and apoptosis and indirect serum markers of fibrosis in the diagnosis of severe liver fibrosis in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease*

Фактор	Значение	Se	Sp	AUC ± SE	95% CI
MAP1LC3alpha	3,51 нг/мл	0,73	0,59	0,680 ± 0,071	0,547 –0,825
BECN-1	4,49 нг/мл	0,52	0,65	0,630 ± 0,071	0,496 – 0,775
BCL-2	3,26 нг/мл	0,65	0,38	0,570 ± 0,072	0,429 – 0,711
CASP3	8,1 нг/мл	0,60	0,64	0,630 ± 0,071	0,492 – 0,768
ATG-5	16,2 нг/мл	0,52	0,65	0,520 ± 0,078	0,368 - 0,673
APRI	0,38	0,73	0,68	0,782 ± 0,061	0,663 - 0,902
FIB4	1,21	0,73	0,56	0,715 ± 0,068	0,582 – 0,847

Примечание. Представлены результаты ROC-анализа. Se – чувствительность, Sp – специфичность, SE – стандартная ошибка среднего.

Заключение

У больных СД2 с НАЖБП уровень в сыворотке крови молекул, вовлеченных в процессы аутофагии и апоптоза – MAP1LC3alpha и BECN-1 – значимо ассоциирован с выраженным фиброзом печени (3–4-я стадия по шкале Metavir). Диагностическая ценность MAP1LC3alpha и BECN-1 в диагностике фиброза печени, однако, уступает таковой у традиционно используемых непрямых индексов фиброза (APRI, FIB4). Сывороточная концентрация BCL-2 и ATG-5 не показала статистически значимых ассоциаций с выраженностью фиброза печени.

Список литературы / References

1. Kouroumalis E., Voumvouraki A., Augoustaki A., Samonakis D.N. Autophagy in liver diseases. *World J. Hepatol.* 2021;13(1):6–65. doi: 10.4254/wjh.v13.i1.6

2. Czaja M.J. Function of autophagy in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig. Dis. Sci.* 2016;61(5):1304–1313. doi: 10.1007/s10620-015-4025-x

3. Hernández-Gea V., Ghiassi-Nejad Z., Rozenfeld R., Gordon R., Fiel M.I., Yue Z., Czaja M.J., Friedman S.L. Autophagy releases lipid that promotes fibrogenesis by activated hepatic stellate cells in mice and in human tissues. *Gastroenterology.* 2012;142(4):938–946. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.044

4. Ding H., Ge G., Tseng Y., Ma Y., Zhang J., Liu J. Hepatic autophagy fluctuates during the development of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann. Hepatol*. 2020;19(5):516–522. doi: 10.1016/j.aohep.2020.06.001

5. Tong M., Zheng Q., Liu M., Chen L., Lin Y.H., Tang S.G., Zhu Y.M. 5-methoxytryptophan alleviates liver fibrosis by modulating FOXO3a/miR-21/ATG5 signaling pathway mediated autophagy. *Cell. Cycle*. 2021;20(7):676–688. doi: 10.1080/15384101.2021.1897241

6. Lodder J., Denaës T., Chobert M.N., Wan J., El-Benna J., Pawlotsky J.M., Lotersztajn S., Teixeira-Clerc F. Macrophage autophagy protects against liver fibrosis in mice. *Autophagy*. 2015;11(8):1280–1292. doi: 10.1080/15548627.2015.1058473

7. He H., Dang Y., Dai F., Guo Z., Wu J., She X., Pei Y., Chen Y., Ling W., Wu C., … Yu L. Post-translational modifications of three members of the human MAP1LC3 family and detection of a novel type of modification for MAP1LC3B. *J. Biol. Chem.* 2003;278(31):29278–29287. doi: 10.1074/jbc.M303800200

8. Wang L., Xu M., Jones O.D., Li Z., Liang Y., Yu Q., Li J., Wu Y., Lei X., He B., … Xu X. Nonalcoholic fatty liver disease experiences accumulation of hepatic liquid crystal associated with increasing lipophagy. *Cell Biosci.* 2020;10:55. doi: 10.1186/s13578-020-00414-2

9. Kotsafti A., Farinati F., Cardin R., Cillo U., Nitti D., Bortolami M. Autophagy and apoptosis-related genes in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:118. doi: 10.1186/1471-230X-12-118

10. Teng K.Y., Barajas J.M., Hu P., Jacob S.T., Ghoshal K. Role of B cell lymphoma 2 in the regulation of liver fibrosis in miR-122 knockout mice. *Biology (Basel).* 2020;9(7):157. doi: 10.3390/biology9070157

11. Ehsan N.A., Mosbeh A.M., Elkhadry S.W., Gomaa A.I., Elsabaawy M.M., Elazab D.S. Altered protein and gene expression of beclin-1 correlates with poor prognosis of Hcv-Associated hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2021;22(4):1115–1122. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.4.1115

12. Zhang S., Xu M., Zhang W., Liu C., Chen S. Natural polyphenols in metabolic syndrome: protective mechanisms and clinical applications. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22(11):6110. doi: 10.3390/ijms22116110

13. Pop C., Salvesen G.S. Human caspases: activation, specificity, and regulation. *J. Biol. Chem.* 2009;284(33):21777–21781. doi: 10.1074/jbc.R800084200

14. Thapaliya S., Wree A., Povero D., Inzaugarat M.E., Berk M., Dixon L., Papouchado B.G., Feldstein A.E. Caspase 3 inactivation protects against hepatic cell death and ameliorates fibrogenesis in a diet-induced NASH model. *Dig. Dis. Sci.* 2014;59(6):1197–1206. doi: 10.1007/s10620-014-3167-6

15. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., Мокрышева Н.Г., Викулова О.К., Галстян Г.Р., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Смирнова О.М., Старостина Е.Г., … Шестакова Е.А. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. *Сах. диабет*. 2021;24(1s):1–148. doi: 10.14341/DM12802

Dedov I.I., Shestakova M.V., Mayorov A.Yu., Mokrysheva N.G., Vikulova O.K., Galstyan G.R., Kuraeva T.L., Peterkova V.A., Smirnova O.M., Starostina E.G., … Shestakova E.A. Standards of specialized diabetes care. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus*. 2021;24(1s):1–148. [In Russian]. doi: 10.14341/DM12802

16. Bohn M.J., Babor T.F., Kranzler H.R. The Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): validation of a screening instrument for use in medical settings. *J. Stud. Alcohol.* 1995;56(4):423–432. doi: 10.15288/jsa.1995.56.423

17. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Тихонов И.Н., Широкова Е.Н., Буеверов А.О., Драпкина О.М., Шульпекова Ю.О., Цуканов В.В., Маммаев С.Н., Маев И.В., Пальгова Л.К. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2016;(2):24–42. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42

Ivashkin V.T., Mayevskaya M.V., Pavlov Ch.S., Tikhonov I.N., Shirokova Ye.N., Buyeverov A.O., Drapkina O.M., Shulpekova Yu.O., Tsukanov V.V., Mammayev S.N., Mayev I.V., Palgova L.K. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the Russian gastroenterological association. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2016;(2):24–42. [In Russian]. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42

18. Castéra L., Vergniol J., Foucher J., le Bail B., Chanteloup E., Haaser M., Darriet M., Couzigou P., de Lédinghen V. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;128(2):343–350. doi: 10.1053/j.gastro.2004.11.018

19. Vallet-Pichard A., Mallet V., Nalpas B., Verkarre V., Nalpas A., Dhalluin-Venier V., Fontaine H., Pol S. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. Comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*. 2007;46(1):32–36. doi: 10.1002/hep.21669

20. Wai C.T., Greenson J.K., Fontana R.J., Kalbfleisch J.D., Marrero J.A., Conjeevaram H.S., Lok A.S. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(2):518–526. doi: 10.1053/jhep.2003.50346

21. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях. *Соц. аспекты здоровья населения*. 2019;65(6):1–10. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10

Narkevich A.N., Vinogradov K.A. Methods for determining the minimum required sample size in medical research. *Sotsial'nyye aspekty zdorov'ya naseleniya = Social Aspects of Population Health.* 2019;65(6):1–10. [In Russian]. doi: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10

Сведения об авторах:

Краснер Яков Аркадьевич, к.м.н., ORCID: 0000-0003-0091-2299, e-mail: yakov.krasner@yandex.ru
Романов Вячеслав Витальевич, ORCID: 0000-0003-1953-2536, e-mail: slavrom@mail.ru
Фазуллина Ольга Николаевна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-5868-579X, e-mail: fazullina.olga@mail.ru
Осипенко Марина Федоровна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5156-2842, e-mail: ngma@bk.ru
Климонтов Вадим Валерьевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5407-8722, e-mail: klimontov@mail.ru

Information about the authors:

Yakov A. Krasner, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0091-2299, e-mail: yakov.krasner@yandex.ru
Vyacheslav V. Romanov, ORCID: 0000-0003-1953-2536, e-mail: slavrom@mail.ru
Olga N. Fazullina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5868-579X, e-mail: fazullina.olga@mail.ru
Marina F. Osipenko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5156-2842, e-mail: ngma@bk.ru
Vadim V. Klimontov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5407-8722, e-mail: klimontov@mail.ru

Поступила в редакцию 27.07.2023
После доработки 25.09.2023
Принята к публикации 08.11.2023

Received 27.07.2023
Revision received 25.09.2023
Accepted 08.11.2023