



© Коллектив авторов, 2023

УДК 616.36-002.43-03 : 575

DOI: 10.24884/1607-4181-2022-30-4-43-51

Д. В. Сидоренко<sup>1\*</sup>, В. Д. Назаров<sup>1</sup>, С. В. Лапин<sup>1</sup>, В. Л. Эмануэль<sup>1</sup>, К. Л. Райхельсон<sup>2</sup>,  
В. П. Гомонова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

## АССОЦИАЦИЯ ВАРИАНТА p.I148M В ГЕНЕ *PNPLA3* С ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ В РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ГРУППАХ

Поступила в редакцию 09.10.2023 г.; принята к печати 25.12.2023 г.

### Резюме

**Введение.** Неалкогольная жировая болезнь печени в большинстве случаев тесно ассоциирована с такими заболеваниями, как ожирение и сахарный диабет 2 типа, однако у ряда пациентов не наблюдается данной зависимости. В этом случае наибольшую ценность для прогноза течения заболевания приобретают наследственные факторы, такие как вариант p.I148M гена *PNPLA3*.

**Цель** — оценка ассоциации варианта p.I148M гена *PNPLA3* с отягощенным течением НАЖБП у подгрупп пациентов с наличием и отсутствием сопутствующей метаболической патологии.

**Методы и материалы.** В исследуемую группу вошли 212 пациентов с НАЖБП, которым было проведено генотипирование p.I148M гена *PNPLA3*. Тяжесть заболевания оценивали в общей группе (группа П) и в подгруппах пациентов с отсутствием и наличием ожирения (подгруппы О– и О+ соответственно) и сахарного диабета 2 типа (подгруппы Д– и Д+). Тяжесть заболевания оценивалась по степени выраженности цитолитического синдрома (уровень АЛТ), стеатоза и фиброза печени (значение КПЗУ и жесткости печени по данным транзиторной эластометрии) внутри клинических подгрупп между носителями различных генотипов *PNPLA3*.

**Результаты.** Более высокие значения АЛТ были обнаружены у гомозиготных носителей p.I148M по сравнению с референтным генотипом (CC/GG) в подгруппах П, Д–, Д+ и О– ( $p=0,012$ ;  $p=0,012$ ;  $p=0,028$  и  $0,042$  соответственно), а также при сравнении общей группы носителей с референтным генотипом (CC/CG + GG) в подгруппах П и Д– ( $p=0,036$  и  $p=0,015$ ). Более выраженный стеатоз был обнаружен у гомозиготных носителей по сравнению с референтным генотипом (CC/GG) в группе П ( $p=0,017$ ) и подгруппе О– ( $p=0,019$ ). Более высокие значения жесткости печени были отмечены у измененного генотипа *PNPLA3* при сравнении референтного (CC/CG) генотипа с гетерозиготами в группе П ( $p=0,027$ ) и подгруппе Д– ( $p=0,006$ ) и при сравнении референтного генотипа с общей группой носителей (CC/CG + GG) в подгруппе Д– ( $p=0,009$ ).

**Выводы.** Носительство p.I148M гена *PNPLA3* у пациентов без метаболических нарушений (ожирение, сахарный диабет 2 типа) ассоциировано с формированием цитолитического синдрома, стеатоза и фиброза печени.

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

**Для цитирования:** Сидоренко Д. В., Назаров В. Д., Лапин С. В., Эмануэль В. Л., Райхельсон К. Л., Гомонова В. П. Ассоциация варианта p.I148M в гене *PNPLA3* с тяжестью течения неалкогольной жировой болезни печени в различных клинических группах. Ученые записки ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2023; 30(4):43–51. DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-4-43-51.

\* Автор для связи: Дарья Владимировна Сидоренко, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: [si-do-renko@mail.ru](mailto:si-do-renko@mail.ru).

Darya V. Sidorenko<sup>1\*</sup>, Vladimir D. Nazarov<sup>1</sup>, Sergey V. Lapin<sup>1</sup>, Vladimir L. Emanuel<sup>1</sup>,  
Karina L. Raikhelson<sup>2</sup>, Veronika P. Gomonova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pavlov University

<sup>2</sup> St Petersburg University

## ASSOCIATION OF THE p.I148M POLYMORPHISM IN THE *PNPLA3* GENE WITH THE SEVERITY OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN VARIOUS CLINICAL GROUPS

Received 09.10.2023; accepted 25.12.2023

### Summary

**Introduction.** Non-alcoholic fatty liver disease in most cases is closely associated with diseases such as obesity and type 2 diabetes mellitus, however, this dependence is not observed in a number of patients. In this case, hereditary factors, such as the p.I148M polymorphism of the *PNPLA3* gene, play the greatest role in the prognosis of the course of the disease.

The **objective** of the study was to evaluate the effect of the p.I148M polymorphism of the *PNPLA3* gene on the course of NAFLD in subgroups of patients with and without concomitant metabolic pathology.

**Methods and materials.** The study group included 212 patients with NAFLD who underwent p.I148M genotyping of the *PNPLA3* gene. The severity of the disease was assessed in the general group (group P) and in subgroups of patients with the absence and presence of obesity (subgroups O – and O +, respectively) and type 2 diabetes mellitus (subgroups D – and D +). The severity of the disease was assessed by the severity of cytolytic syndrome (ALT level), hepatic steatosis and fibrosis (the value of CAP and liver stiffness according to transient elastometry) within clinical subgroups between carriers of different *PNPLA3* genotypes.

**Results.** Higher ALT levels were found in homozygous carriers of p.I148M compared with the reference genotype (CC/GG) in the subgroups P, D –, D + and O – ( $p = 0.012$ ;  $p = 0.012$ ;  $p = 0.028$  and  $0.042$ , respectively), as well as when comparing the general group of carriers with reference genotype (CC/CG + GG) in subgroups P and D – ( $p = 0.036$  and  $p = 0.015$ ). More severe steatosis was found in homozygous carriers compared to the reference genotype (CC/GG) in group P ( $p = 0.017$ ) and subgroup O – ( $p = 0.019$ ). Higher values of liver stiffness were noted in the modified *PNPLA3* genotype when comparing the reference (CC/CG) genotype with heterozygotes in group P ( $p = 0.027$ ) and subgroup D – ( $p = 0.006$ ) and when comparing the reference genotype with the general carrier group (CC/CG + GG) in subgroup D – ( $p = 0.009$ ).

**Conclusions.** The carriage of p.I148M of the *PNPLA3* gene in patients without metabolic disorders (obesity, type 2 diabetes mellitus) is associated with the formation of cytolytic syndrome, steatosis and liver fibrosis.

**Keywords:** nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD, *PNPLA3* gene, liver steatosis, liver fibrosis

**For citation:** Sidorenko D. V., Nazarov V. D., Lapin S. V., Emanuel V. L., Raikhelson K. L., Gomonova V. P. Association of the p.I148M polymorphism in the *PNPLA3* gene with the severity of nonalcoholic fatty liver disease in various clinical groups. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2023;30(4):43–51. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2023-30-4-43-51.

\* **Corresponding author:** Darya V. Sidorenko, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: si-do-renko@mail.ru.

### ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) представляет собой наиболее часто встречающуюся патологию печени. Общая распространенность НАЖБП в мире составляет порядка 25 % [1], в России по данным мультицентрового исследования DIREG2 распространенность НАЖБП у пациентов амбулаторного звена составила 37,3 % [2]. Заболевание характеризуется как избыточное отложение жирового компонента в более чем 5 % гепатоцитов при условии отсутствия употребления алкоголя в гепатотоксичных дозах [3]. Несмотря на длительное доброкачественное и бессимптомное течение, у ряда пациентов простой неалкогольный стеатоз осложняется развитием воспаления в тканях печени (стеатогепатит), который, в свою очередь, может стать причиной формирования фиброза и цирроза органа. Так, до 80 % циррозов неуточненной этиологии являются исходом несвоевременно диагностированного неалкогольного стеатогепатита [4]. Неалкогольная жировая болезнь печени относится к мультифакторным заболеваниям, в основе патогенеза которого лежат как метаболические и генетические факторы, так

и факторы внешней среды. Наиболее часто НАЖБП ассоциирована с такими патологиями, как избыточная масса тела, ожирение, инсулинорезистентность и сахарный диабет 2 типа [5]. Данную форму заболевания принято обозначать как метаболически-ассоциированная болезнь печени (МАЗБП) [6].

Однако среди больных НАЖБП можно обнаружить пациентов без сопутствующей коморбидной патологии, у которых стеатоз печени развивается в отсутствии признаков избыточной массы тела или ожирения и без нарушений углеводного обмена. Такое течение заболевания принято обозначать «НАЖБП худых» (lean NAFLD) [7]. В ряде исследований было показано, что для оценки рисков осложненного течения заболевания для данной группы пациентов нецелесообразно использовать показатели патологии обмена липидов и углеводов, и большее значение приобретают наследственные факторы развития НАЖБП [7].

Одним из наиболее перспективных генетических факторов формирования и отягощенного течения НАЖБП является вариант p.I148M в гене *PNPLA3*. Так, по данным последних полногеном-

ных проектов по поиску генетических ассоциаций (GWAS, genome-wide association studies), именно вариант р.1148М в гене *PNPLA3* обладал наибольшей достоверностью ( $p \leq 5 \cdot 10^{-8}$ ) в отношении развития всего спектра гистологических проявлений НАЖБП, подтвержденных данными биопсии [8]. В основе патогенеза в данном случае лежит нарушение гидролазной функции нативного белка адипонутрина, а также накопление его измененной формы вокруг липидных капель в гепатоцитах с ограничением доступа других липолитических ферментов [9]. Кроме того, накопление мутантного белка с вариантом р.1148М в звездчатых клетках печени ведет к их преобразованию в миофибробластоподобные, провоцируя тем самым развитие фиброза печени [10]. Однако требуется исследование значимости данного варианта среди различных клинических групп пациентов с НАЖБП, проживающих на территории Российской Федерации.

**Целью** данного исследования является оценка ассоциации варианта р.1148М гена *PNPLA3* с отягощенным течением НАЖБП у подгрупп пациентов с наличием и отсутствием сопутствующей метаболической патологии.

## МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Для оценки влияния варианта р.1148М гена *PNPLA3* на течение НАЖБП у групп пациентов с наличием и отсутствием сопутствующей метаболической патологии были отобраны 212 пациентов с установленным диагнозом «НАЖБП». Критериями включения в общую группу исследуемых явились: возраст более 18 лет и установленный диагноз «НАЖБП» на основании наличия стеатоза, выявленного по данным ультразвукового исследования органов брюшной полости, и исключения других причин его развития. Критериями исключения являлись: другие заболевания печени (вирусный, аутоиммунный или токсический гепатиты) и употребление алкоголя в гепатотоксичных дозах  $>210$  мл этанола в неделю для мужчин и  $>140$  мл для женщин (оценивалось анамнестически).

Для всех исследуемых были собраны демографические и антропометрические данные (пол, возраст, индекс массы тела (ИМТ), оценено наличие коморбидности (в том числе сахарного диабета 2 типа), определены данные биохимического исследования крови (общий холестерин (ОХ), уровень глюкозы натощак, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), проведена транзитная эластометрия с оценкой контролируемого параметра затухания ультразвука (КПЗУ). Кроме того, всем исследуемым было выполнено генетическое исследование на наличие варианта р.1148М гена *PNPLA3* (rs738409; C>G). Генотипирование производилось в Лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ по молекулярной медицине Минздрава РФ

ПСПбГМУ им. И. П. Павлова. Материалом служила ДНК лейкоцитов периферической крови, выделенная методом селективной преципитации с использованием высоких концентраций солей. Методом определения варианта являлась полимеразная цепная реакция в реальном времени с использованием наборов компании Тестген (Россия).

Для сравнительной оценки влияния варианта р.1148М гена *PNPLA3* на течение НАЖБП у групп пациентов с различной коморбидной патологией были сформированы 5 подгрупп исследуемых. В общую группу (**группа П**) были включены все исследуемые (212 человек); в подгруппу пациентов без ожирения (**подгруппа О-**) согласно классификации ВОЗ были включены исследуемые с ИМТ  $<30$  кг/м<sup>2</sup> (119 человек); в подгруппу пациентов с ожирением (**подгруппа О+**) были включены исследуемые с ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup> (83 человека); в подгруппу пациентов без сахарного диабета 2 типа (**подгруппа Д-**) были включены пациенты без анамнеза сахарного диабета 2 типа и со значениями уровня глюкозы венозной крови натощак  $<6,1$  ммоль/л (147 человек); в подгруппу пациентов с сахарным диабетом 2 типа (**подгруппа Д+**) были включены пациенты с анамнезом сахарного диабета 2 типа (уровень глюкозы венозной крови  $>7,0$  ммоль/л натощак или  $>11,1$  ммоль/л через 2 часа после глюкозотолерантного теста или при случайном измерении [11] (83 человека). В качестве параметров течения НАЖБП были использованы выраженность цитолитического синдрома (активность АЛТ), стеатоза печени (значение КПЗУ по данным транзитной эластометрии) и фиброза печени (значение жесткости печени по данным транзитной эластометрии).

Характеристика основных исследуемых параметров в различных группах и подгруппах представлена в таблице.

Для оценки влияния варианта р.1148М C>G гена *PNPLA3* на течение НАЖБП было произведено сравнение параметров течения НАЖБП (сравнение средних значений АЛТ, КПЗУ и жесткости печени) между различными генотипами (CC/CG, CC/GG и CC/CG+GG, где С — аллель «дикого типа», а G — измененный аллель) во всех 5 подгруппах исследуемых. Оценка достоверности различий производилась с помощью критерия Стьюдента для параметрических выборок и с помощью критерия Манна — Уитни для непараметрических. Нормальность распределения определялась с помощью комплексного теста на нормальность Д'Агостино — Пирсона после выявления и исключения выбросов из генеральной выборки методом ROUT ( $Q = 1\%$ ). Для описания количественных данных для нормального распределения указывались показатели среднего арифметического значения ( $M$ )  $\pm$  стандартное отклонение ( $SD$ ), для непараметрического — значения медианы ( $M$ )  $\pm$  стандартное отклонение ( $SD$ ). Статистическая обработка

### Характеристика основных исследуемых параметров в различных группах и подгруппах пациентов с НАЖБП

#### Characteristics of the main parameters studied in various groups and subgroups of patients with NAFLD

Группа/подгруппа пациентов	П	Δ–	Δ+	О–	О+
Количество	212	147	65	119	83
Пол (муж/жен)	102/110	77/70	25/40	32/57	35/48
Возраст, годы	58,3±12,9	55,8±13,3	63,8±9,9	58,8±13,8	58,1±12,1
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	29,7±5,6	29,3±4,8	30,6±7,1	26,2±2,3	34,6±5,4
Глюкоза, ммоль/л	5,8±1,7	5,1±0,4	6,3±2,3	5,5±1,3	6,1±1,7
ОХ, ммоль/л	5,4±1,3	5,4±1,3	5,6±1,4	5,2±1,5	5,7±1,1
АЛТ, Ед/л	41,5±37,6	45,2±43,1	33,6±19,8	38,7±28,5	44,3±47,3
АСТ, Ед/л	31,8±25,3	33,6±29,6	28,1±10,5	30,6±22,1	33,6±29,6
КПЗУ, Дб/м <sup>2</sup>	5,9±2,8	5,9±2,6	6,1±3,1	5,4±1,5	6,7±3,9
Жесткость печени, кПа	272,1±62,5	277,4±54	263,9±73,6	256,5±57,3	300,7±62,3
PNPLA3 I148M C>G (CC/CG/GG)	100/89/23	73/57/17	27/32/6	59/48/12	33/39/11

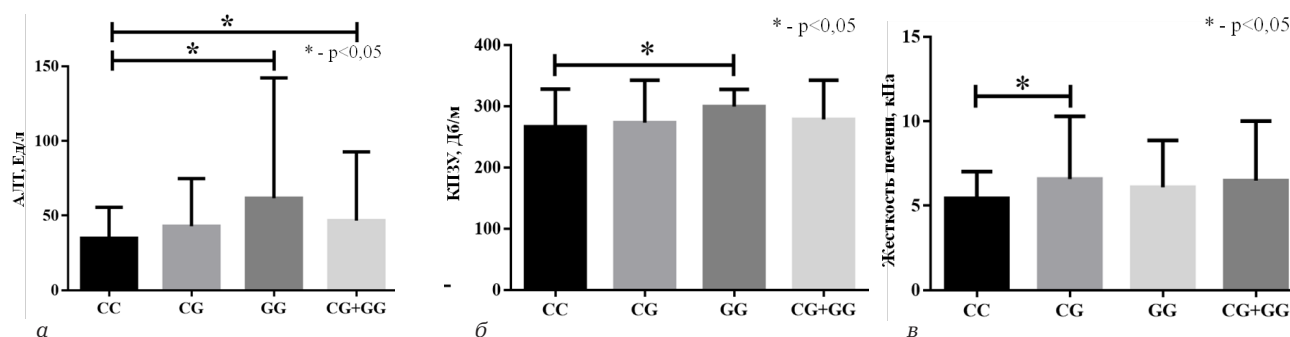


Рис. 1. Средние значения АЛТ (а), КПЗУ (б) и жесткости печени (в) у пациентов с различными генотипами PNPLA3 в группе П

Fig. 1. Mean values of ALT (a), CAP (б) and liver stiffness (в) in patients with different PNPLA3 genotypes in group P

данных производилась с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 6. Достоверными считали различия при значении  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для сравнительной оценки влияния варианта р.1148М гена *PNPLA3* на течение НАЖБП у групп пациентов с различной коморбидной патологией было произведено сравнение значений течения НАЖБП между различными генотипами в 5 подгруппах исследуемых.

В общей группе пациентов с НАЖБП (группа П; 212 человек) аллельная частота р.1148М составила 0,319. Было обнаружено увеличение значений АЛТ у носителей варианта при сравнении референтного генотипа *PNPLA3* с гомозиготными носителями (CC/GG) ( $p = 0,012$ ;  $30,7 \pm 14,9 / 43,83 \pm 21,3$  Ед/л) и общей группой носителей р.1148М (CC/CG + GG) ( $p = 0,036$ ;  $30,7 \pm 14,9 / 38,2 \pm 20,9$  Ед/л) (рис. 1, а). При сравнении характеристик стеатоза определено повышение значений КПЗУ у гомозиготных носителей варианта по сравнению с носителями вариантов CC и GG (CC/GG) ( $p = 0,017$ ;  $226, \pm 61,4 / 299,4 \pm 28,2$  Дб/м) (рис. 1, б). При оценке показателей фиброза печени более высокие значения жесткости органа наблюдались у гетерозиготных

носителей варианта в гене *PNPLA3* по сравнению с референтным генотипом (CC/CG) ( $p = 0,027$ ;  $5,31 \pm 1,07 / 5,67 \pm 1,26$  кПа) (рис. 1, в).

При рассмотрении подгруппы пациентов без сопутствующего сахарного диабета 2 типа (подгруппа Δ–; 147 человек) было обнаружено увеличение значений АЛТ у носителей варианта при сравнении референтного генотипа *PNPLA3* с гомозиготными носителями (CC/GG) ( $p = 0,012$ ;  $32,7 \pm 13 / 47,4 \pm 21,7$  Ед/л) и общей группой носителей р.1148М (CC/CG + GG) ( $p = 0,015$ ;  $32,7 \pm 13 / 44,6 \pm 24,8$  Ед/л) (рис. 2, а). Также у пациентов без инсулинорезистентности с референтным генотипом по *PNPLA3* были определены более низкие показатели жесткости печени, отражающие стадию фиброза по сравнению с гетерозиготными носителями варианта (CC/CG) ( $p = 0,005$ ;  $5,22 \pm 1,04 / 5,77 \pm 1,17$  кПа) и по сравнению с общей группой носителей изменений в гене *PNPLA3* ( $p = 0,009$ ;  $5,22 \pm 1,04 / 5,72 \pm 1,2$  кПа) (рис. 2, б). Достоверных различий при оценке выраженности стеатоза печени в подгруппе пациентов без сахарного диабета 2 типа обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

В подгруппе пациентов с НАЖБП и сахарным диабетом 2 типа (подгруппа Δ+; 65 человек) обнаружен более выраженный цитолитический синдром у гомозиготных носителей варианта по



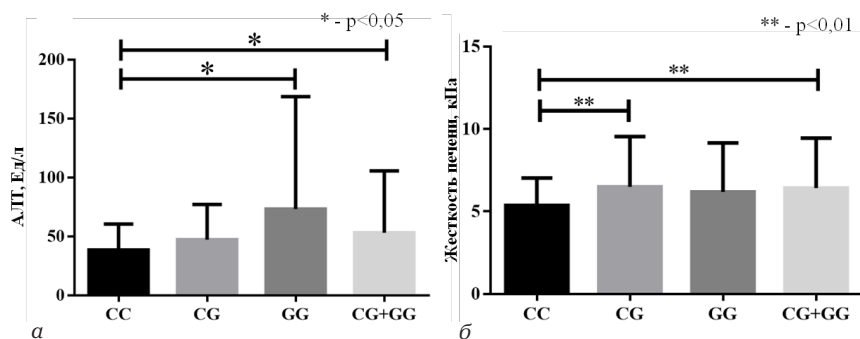


Рис. 2. Средние значения АЛТ (а) и жесткости печени (б) у пациентов с различными генотипами PNPLA3 в группе Д –

Fig. 2. Mean values of ALT (a) and liver stiffness (б) in patients with different PNPLA3 genotypes in group D –

сравнению с референтным генотипом (CC/GG) ( $p = 0,028$ ;  $28,8 \pm 12,6 / 57,7 \pm 22,4$  Ед/л) (рис. 3). Между группами сравнения с различными генотипами гена *PNPLA3* по параметрам выраженности стеатоза и фиброза достоверных различий не выявлено ( $p > 0,05$ ).

При сравнении лабораторных характеристик в подгруппе пациентов без ожирения (подгруппа О –; 119 человек) также было обнаружено повышение значений АЛТ у носителей изменений в гене *PNPLA3* при сравнении референтного генотипа с гомозиготными носителями р.1148М (CC/GG) ( $p = 0,042$ ;  $31,3 \pm 16,4 / 44 \pm 21$  Ед/л (рис. 4, а). Кроме того, у гомозиготных носителей отмечался более выраженный стеатоз печени, оцененный по показателю КПЗУ, по сравнению с «диким типом» *PNPLA3* (CC/GG) ( $p = 0,019$ ;  $255 \pm 58 / 303,2 \pm 8,1$  Дб/м) (рис. 4, б). При сравнении показателей жесткости печени достоверных различий в подгруппе О – обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

В подгруппе пациентов с ожирением (подгруппа О +; 83 человека) между лицами с различными генотипами гена *PNPLA3* по параметрам цитолитического синдрома, выраженности стеатоза и фиброза достоверных различий обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

Значения достоверности различий средних значений  $r$  для всех параметров и групп сравнения продемонстрированы на рис. 5.

Неалкогольная жировая болезнь печени является самой распространенной патологией печени, в ряде случаев протекающей в виде неалкогольного стеатогепатита и развитием таких осложнений, как фиброз и цирроз печени. Несмотря на то, что заболевание часто ассоциировано с ожирением и инсулинорезистентностью, нередко НАЖБП проявляется у лиц без сопутствующей коморбидной патологии. В этом случае оценить риски формирования осложнений позволяют молекулярные методы обследования, характеризующие генетические факторы риска развития НАЖБП.

Предполагается, что носительство варианта р.1148М гена *PNPLA3* ассоциировано с повышенными рисками прогрессии заболевания в общей

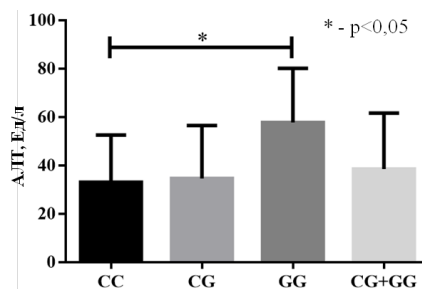


Рис. 3. Средние значения АЛТ у пациентов с различными генотипами PNPLA3 в группе Д +

Fig. 3. Mean ALT values in patients with different PNPLA3 genotypes in group D +

популяции больных НАЖБП и используется для оценки рисков осложнений наряду с выраженностью изменений липидного и углеводного обменов. В то же время у пациентов с «худой НАЖБП», по данным исследователей, этот молекулярный маркер является ведущим фактором формирования стеатоза печени в отсутствии злоупотребления алкоголем [12]. Таким образом, представляет интерес влияние носительства варианта гена *PNPLA3* на течение НАЖБП в различных клинических группах пациентов из Российской Федерации.

Для сравнительной оценки влияния варианта р.1148М гена *PNPLA3* на течение НАЖБП у групп пациентов с различной коморбидной патологией было выполнено сравнение средних значений течения НАЖБП между различными генотипами в 5 подгруппах исследуемых. Аллельная частота варианта в общей группе пациентов с НАЖБП составила 0,319, в то время как распространенность данного варианта в здоровой российской популяции, согласно российской популяционной базе данных RUSeq, — 0,2521 [13]. Таким образом, распространенность р.1148М в группе пациентов с НАЖБП достоверно выше, чем в здоровой популяции ( $\chi^2 = 16,23$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,0001$  при анализе четырехпольных таблиц сопряжения (хи-квадрат), где фактором риска служило наличие измененного аллеля, а исходами — попадание в группу общей популяции или группу пациентов НАЖБП). Данная находка подтверждает ассоциацию между но-

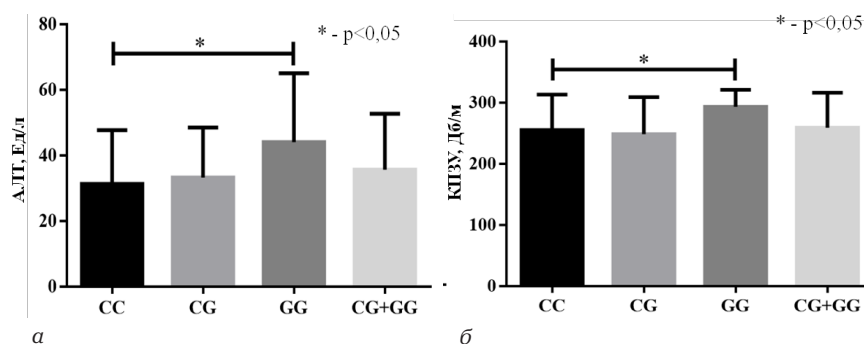


Рис. 4. Средние значения АЛТ (а) и КПЗУ (б) у пациентов с различными генотипами PNPLA3 в группе О–

Fig. 4. Mean values of ALT (a) and CAP (b) in patients with different PNPLA3 genotypes in group O–

Группа	Генотип	Цитолитический синдром		Стеатоз печени		Фиброз печени	
		Среднее значение АЛТ, Ед/л	Значение р	Среднее значение КПЗУ, Дб/м	Значение р	Среднее значение жесткости печени, кПа	Значение р
II	CC	30,7	0,170	266,4	0,576	5,31	0,027
	CG	36,0		273,1		5,67	
	GG	43,8		299,4		5,55	
	CG+GG	38,2		278,6		5,65	
D-	CC	32,7	0,135	267,1	0,641	5,22	0,006
	CG	43,8		272,9		5,77	
	GG	47,4		298,6		5,54	
	CG+GG	44,6		284,5		5,72	
D+	CC	28,8	0,577	275,0	0,739	5,81	0,633
	CG	26,7		285,9		6,08	
	GG	57,7		332,0		6,26	
	CG+GG	38,5		291,7		6,11	
O-	CC	31,3	0,482	255,0	0,883	5,13	0,063
	CG	33,2		248,4		5,53	
	GG	44,0		303,2		5,57	
	CG+GG	35,6		258,9		5,54	
O+	CC	29,8	0,231	295,9	0,821	5,58	0,076
	CG	40,7		303,1		6,04	
	GG	43,6		310,3		5,53	
	CG+GG	41,3		304,3		5,91	

Рис. 5. Значения р при сравнении средних значений основных параметров течения НАЖБП у пациентов с различными генотипами PNPLA3

Fig. 5. P values when comparing the mean values of the main parameters of the course of NAFLD in patients with different PNPLA3 genotypes

сительством варианта и формированием НАЖБП, отмеченной работами S. Romeo. et al. (2008) [14], установившими корреляцию между частотой встречаемости р.1148М и частотой формирования неалкогольного стеатоза в различных популяциях.

При рассмотрении общей группы больных (группа II) был обнаружен более выраженный цитолитический синдром (активность АЛТ) как по сравнению референтного генотипа PNPLA3 с гомозиготами (CC/GG) ( $p=0,012$ ), так и по сравнению с общей группой носителей (CC/CG+GG) ( $p=0,036$ ). Схожие данные были получены в группе пациентов без сахарного диабета 2 типа (подгруп-

па D–): для CC/GG  $p=0,012$  и для CC/CG+GG  $p=0,015$ . В подгруппе пациентов с ИМТ  $<30 \text{ кг/м}^2$  (подгруппа O–) значения АЛТ также были выше у гомозиготных носителей р.1148М по сравнению с референтным генотипом (CC/GG) ( $p=0,042$ ). Полученные данные соответствуют сведениям, опубликованным X. Yuan et al. (2008) [15], описывающим более выраженный цитолитический синдром при НАЖБП у носителей варианта, особенно в гомозиготной форме.

При оценке выраженности стеатоза, измеренного с помощью КПЗУ методом транзитной эластометрии, было обнаружено более интенсивное

накопление жирового компонента в печени у гомозиготных носителей варианта р.1148М по сравнению с референтным генотипом *PNPLA3* (CC/GG) ( $p=0,017$ ) в общей группе П и в подгруппе пациентов без ожирения (подгруппа О–) ( $p=0,019$ ). Данная находка подтверждается литературными данными. Так, в работах S. Romeo et al. [14] более выраженные значения стеатоза печени отмечались у носителей р.1148М по сравнению с референтным генотипом.

Влияние генотипа *PNPLA3* на формирование фиброза печени было отмечено в общей группе П и в подгруппе пациентов без сахарного диабета 2 типа (подгруппа Д–). Значения жесткости печени были ниже у нормального генотипа по сравнению с гетерозиготными носителями р.1148М (CC/CG) в группе П ( $p=0,027$ ) и подгруппе Д– ( $p=0,006$ ). Также в подгруппе Д– обнаруживалось достоверное повышение значения жесткости печени у носителей варианта и при сравнении референтного генотипа и общей группой носителей (CC/CG + GG) ( $p=0,009$ ). Полученные данные соответствуют патогенному влиянию варианта на фибробластное перерождение клеток Ито и подтверждаются работами J. Kurcinskis et al. (2017) [16], по данным которых вариант был ассоциирован с более выраженными фибротическими изменениями у пациентов с НАЖБП, а также с повышенной вероятностью формирования цирроза печени.

Исходя из данных, полученных при подгрупповом анализе, достоверная разница между показателями течения НАЖБП у различных генотипов *PNPLA3* чаще обнаруживалась в подгруппах пациентов без ожирения (подгруппа О–) и без сопутствующего сахарного диабета 2 типа (подгруппа Д–) (рис. 5), что свидетельствует о том, что наибольшее влияние на течение заболевания р.1148М оказывает в группах больных без сопутствующей метаболической патологии. Данные находки подтверждаются исследованиями S. Romeo et al. [14], которым в ходе проекта по поиску полногеномных ассоциаций (GWAS) удалось установить независимый характер риска формирования стеатоза печени у носителей р.1148М от ИМТ, наличия сахарного диабета и употребления алкоголя. Кроме того, более выраженное отложение жирового компонента в печени по данным КПЗУ у носителей варианта было обнаружено только в подгруппе пациентов с ИМТ менее 30 кг/м<sup>2</sup> (подгруппа О–). Это является сопоставимым с исследованием H. Lin et al. (2021) [17], где более выраженный эффект на формирование стеатоза у носителей р.1148М отмечался в группе худых исследуемых по сравнению с группой пациентов с избыточной массой тела и ожирением. Также негативный эффект варианта на фиброзирование органа отмечался только в подгруппе пациентов без сахарного диабета 2 типа (подгруппа Д–). Так, в работе L. Valenti et al. (2010) [18] вариант гена *PNPLA3* был ассоциирован с раз-

витием более выраженного фиброза у пациентов с НАЖБП независимо от наличия диабета, ИМТ и возраста.

Отсутствие статистически значимых изменений в значениях КПЗУ и жесткости печени у носителей варианта гена *PNPLA3* в подгруппах больных с ожирением (подгруппа О+) и сахарным диабетом 2 типа (подгруппа Д+) может быть обусловлено мультифакторной этиологией заболевания. Вероятно, в указанных группах ведущими патогенетическими факторами формирования стеатоза печени являются изменения со стороны липидного и углеводного обменов.

## ВЫВОДЫ

Носительство варианта р.1148М гена *PNPLA3* ассоциировано с более агрессивным течением НАЖБП и предрасполагает к формированию более выраженного цитолитического синдрома, стеатоза и фиброза печени. Кроме того, данные изменения наиболее значимы в группах пациентов без ожирения и сахарного диабета. Генотипирование р.1148М гена *PNPLA3* может быть рекомендовано пациентам с НАЖБП для стратификации рисков развития ее прогрессирующего течения, особенно в случае отсутствия сопутствующих метаболических нарушений.

## Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

## Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

## Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

## Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Younossi Z. M., Koenig A. B., Abdelatif D. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes // *Hepatology*. – 2016. – Vol. 64. – P. 73–84. DOI: 10.1002/hep.28431.
2. Ивашкин В. Т., Маевская М. В., Павлов Ч. С. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2016. – Т. 26, № 2. – С. 24–42.
3. *European Association for the Study of the Liver (EASL) et al. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for*

the management of non-alcoholic fatty liver disease // *Journal of hepatology*. – 2016. – Vol. 64, № 6. – P. 1388–402. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.11.004.

4. Воронина Л. П. Неалкогольный стеатогепатит в практике терапевта // *Медицинские новости*. – 2009. – № 4. – С. 26–29.

5. Jichitu A., Bungau S., Stanescu A. M. A. et al. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular comorbidities: pathophysiological links, diagnosis, and therapeutic management // *Diagnostics (Basel)*. – 2021. – Vol. 11, № 4. – P. 689. DOI:10.3390/dia.

6. Kaya E., Yilmaz Y. Metabolic-associated Fatty Liver Disease (MAFLD): a multi-systemic disease beyond the liver // *Journal of clinical and translational hepatology*. – 2022. – Vol. 10, № 2. – P. 329–338. DOI: 10.14218/JCTH.2021.00178.

7. Chrysavgis L., Ztriva E., Protopapas A. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in lean subjects: Prognosis, outcomes and management // *World journal of gastroenterology*. – 2020. – Vol. 26, № 42. – P. 6514–6528. DOI: 10.3748/wjg.v26.i42.6514.

8. Anstee Q. M., Darlay R., Cockell S. et al. Genome-wide association study of non-alcoholic fatty liver and steatohepatitis in a histologically characterised cohort // *Journal of hepatology*. – 2020. – Vol. 73, № 3. – P. 505–515. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.04.003.

9. Wang Y., Kory N., BasuRay S. et al. PNPLA3, CGI-58, and Inhibition of Hepatic Triglyceride Hydrolysis in Mice // *Hepatology (Baltimore, Md.)*. – 2019. – Vol. 69, № 6. – P. 2427–2441. DOI: 10.1002/hep.30583.

10. Bruschi F.V., Claudel T., Tardelli M. et al. The PNP-LA3 I148M variant modulates the fibrogenic phenotype of human hepatic stellate cells // *Hepatology*. – 2017. – Vol. 65. – P. 1875–1890.

11. Алгоритмы оказания специализированной помощи больным сахарным диабетом / под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова. – Вып. 8. – М., 2017. – 112 с.

12. Xu R., Pan J., Zhou W. et al. Recent advances in lean NAFLD // *Biomed Pharmacother*. – 2022. – Vol. 153. – P. 113331. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113331.

13. Barbitoff Y., Khmelkova D., Pomerantseva E. et al. Expanding the Russian allele frequency reference via cross-laboratory data integration: insights from 6,096 exome samples // *MedRxiv*. – 2021. DOI: 10.1101/2021.11.02.21265801.

14. Romeo S., Kozlitina J., Xing C. et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease // *Nat Genet*. – 2008. – Vol. 40, № 12. – P. 1461–1465.

15. Yuan X., Waterworth D., Perry J. R. et al. Population-based genome-wide association studies reveal six loci influencing plasma levels of liver enzymes // *Am J Hum Genet*. – 2008. – Vol. 83. – P. 520–8. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.09.012.

16. Kupcinskas J., Valantiene I., Varkalaite G. et al. PNP-LA3 and RNF7 gene variants are associated with the risk of developing liver fibrosis and cirrhosis in an eastern european population // *J Gastrointest Liver Dis*. – 2017. – Vol. 26. – P. 37–43. DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.261.pnp.

17. Lin H., Wong G. L., Whatling C. et al. Association of genetic variations with NAFLD in lean individuals // *Liver Int*. – 2022. – Vol. 42, № 1. – P. 149–160. DOI: 10.1111/liv.15078.

18. Valenti L., Al-Serri A., Daly A. K. et al. Homozygosity for the patatin like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease // *Hepatology*. – 2010. – Vol. 51, № 4. – P. 1209–1217.

lytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes // *Hepatology*. 2016;64:73–84. DOI: 10.1002/hep.28431.

2. Ivashkin V. T., Mayevskaya M. V., Pavlov C. S. et al. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the Russian gastroenterological association // *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2016;26(2):24–42. (In Russ.). DOI: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42.

3. European Association for the Study of the Liver (EASL) et al. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease // *Journal of hepatology*. 2016;64(6):1388–402. DOI:10.1016/j.jhep.2015.11.004.

4. Voronina L. P. Nonalcoholic steatohepatitis in the practice of a therapist // *Medical News*. 2009;(4):26–29. (In Russ.).

5. Jichitu A., Bungau S., Stanescu A. M. A. et al. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular comorbidities: pathophysiological links, diagnosis, and therapeutic management // *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(4):689. DOI: 10.3390/dia.

6. Kaya E., Yusuf. Metabolic-associated Fatty Liver Disease (MAFLD): a multi-systemic disease beyond the liver // *Journal of clinical and translational hepatology*. 2022;10(2):329–338. DOI: 10.14218/JCTH.2021.00178.

7. Chrysavgis L., Ztriva E., Protopapas A. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in lean subjects: Prognosis, outcomes and management // *World J Gastroenterol*. 2020;26(42):6514–6528. DOI: 10.3748/wjg.v26.i42.6514.

8. Anstee Q. M., Darlay R., Cockell S. et al. Genome-wide association study of non-alcoholic fatty liver and steatohepatitis in a histologically characterised cohort // *Journal of hepatology*. 2020;73(3):505–515. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.04.003.

9. Wang Y., Kory N., BasuRay S. et al. PNPLA3, CGI-58, and Inhibition of Hepatic Triglyceride Hydrolysis in Mice // *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2019;69(6):2427–2441. DOI: 10.1002/hep.30583.

10. Bruschi F. V., Claudel T., Tardelli M. et al. The PNP-LA3 I148M variant modulates the fibrogenic phenotype of human hepatic stellate cells // *Hepatology*. 2017;65:1875–1890.

11. Algorithms for providing specialized care to patients with diabetes mellitus / eds by I. I. Dedov, M. V. Shestakova, A. Yu. Mayorov. 2017; Issue 8:112. (In Russ.).

12. Xu R., Pan J., Zhou W. et al. Recent advances in lean NAFLD // *Biomed Pharmacother*. 2022;153:113331. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113331.

13. Barbitoff Y. A., Khmelkova D. N., Pomerantseva E. A. et al. Expanding the Russian allele frequency reference via cross-laboratory data integration: insights from 6,096 exome samples // *MedRxiv*. 2021. DOI: 10.1101/2021.11.02.21265801.

14. Romeo S., Kozlitina J., Xing C. et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease // *Nat Genet*. 2008;40(12):1461–1465.

15. Yuan X., Waterworth D., Perry J. R. et al. Population-based genome-wide association studies reveal six loci influencing plasma levels of liver enzymes // *Am J Hum Genet*. 2008;83:520–8. DOI: 10.1016/j.ajhg.2008.09.012.

16. Kupcinskas J., Valantiene I., Varkalaite G. et al. PNP-LA3 and RNF7 gene variants are associated with the risk of developing liver fibrosis and cirrhosis in an eastern european population // *J Gastrointest Liver Dis*. 2017;26:37–43. DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.261.pnp.

17. Lin H., Wong G. L., Whatling C. et al. Association of genetic variations with NAFLD in lean individuals // *Liver Int*. 2022;42(1):149–160. DOI: 10.1111/liv.15078.

18. Valenti L., Al-Serri A., Daly A. K. et al. Homozygosity for the patatin like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *Hepatology*. 2010;51(4):1209–1217.

## REFERENCES

1. Younossi Z. M., Koenig A. B., Abdelatif D. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analysis



## Информация об авторах

**Сидоренко Дарья Владимировна**, врач-лабораторный генетик лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний, Научно-методический центр МЗ РФ по молекулярной медицине, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-8503-0759; **Назаров Владимир Дмитриевич**, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний, Научно-методический центр МЗ РФ по молекулярной медицине, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-9354-8790; **Лапин Сергей Владимирович**, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией диагностики аутоиммунных заболеваний, Научно-методический центр МЗ РФ по молекулярной медицине, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-4998-3699; **Эмануэль Владимир Леонидович**, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-2079-0439; **Райхельсон Карина Леонидовна**, доктор медицинских наук, профессор Научно-клинического и образовательного центра гастроэнтерологии и гепатологии, Санкт-Петербургского государственного университета (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-8821-6142; **Гомонова Вероника Павловна**, ассистент клинического и образовательного центра гастроэнтерологии и гепатологии, Санкт-Петербургского государственного университета (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-8159-9745.

## Information about authors

**Sidorenko Darya V.**, Laboratory Geneticist of the Laboratory for the Diagnosis of Autoimmune Diseases, Scientific and Methodological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation for Molecular Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-8503-0759; **Nazarov Vladimir D.**, Cand. of Sci. (Med.), Junior Research Fellow of the Laboratory for the Diagnosis of Autoimmune Diseases, Scientific and Methodological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation for Molecular Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-9354-8790; **Lapin Sergey V.**, Cand. of Sci. (Med.), Head of the Laboratory for the Diagnosis of Autoimmune Diseases, Scientific and Methodological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation for Molecular Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-4998-3699; **Emanuel Vladimir L.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Molecular Medicine, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-2079-0439; **Raikhelson Karina L.**, Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Scientific, Clinical and Educational Center for Gastroenterology and Hepatology, St Petersburg University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-8821-6142; **Gomonova Veronika P.**, Assistant of the Clinical and Educational Center for Gastroenterology and Hepatology, St Petersburg University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-8159-9745.