

На правах рукописи

КОРНОУХОВА

Любовь Александровна

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ЖИРОВОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ
У ЛИЦ С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ

Специальность:

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук профессор **Эмануэль Владимир Леонидович**

Научный консультант:

доктор медицинских наук **Денисов Николай Львович**

Официальные оппоненты:

Никонов Евгений Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, заведующий кафедрой гастроэнтерологии факультета дополнительного профессионального образования

Ротарь Оксана Петровна – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, главный научный сотрудник НИЛ эпидемиологии неинфекционных заболеваний Института сердца и сосудов

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «1 » октября 2019 г. в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул.Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте: [https://www. nrserm.ru](https://www.nrserm.ru)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время значимым направлением развития клинической лабораторной диагностики является разработка методов лабораторных предикторов и методов ранней диагностики социально значимых заболеваний. Ожирение - актуальное социально значимое патологическое состояние, отнесенное к одной из 9-ти глобальных целей в области профилактики неинфекционных заболеваний и борьбе с ними [ВОЗ, 2015], фактор риска развития «болезней цивилизации»: за период 2010-2016 гг. заболеваемость первичным ожирением (класс МКБ-10: E66- E67) в России выросла на 53%: с 813,2 до 1244,5 на 100 тыс. населения, а с диагнозом, установленным впервые в жизни, - на 98% [Росстат, 2017]. Однако мета-анализ группы ученых из Канады и США в 2018 г. с обработкой информации о 54 тыс. участниках выявил 6% лиц с ожирением, но без нарушений обмена веществ [Kuk J.L., 2018]. Этот феномен получил признание как «метаболически здоровое ожирение» (в оригинальном тексте: “metabolically healthy obese” [Garvey W.T., 2016]): согласно физиологическим исследованиям показано, что у части пациентов с ожирением сохраняется относительная чувствительность к инсулину, а эпидемиологические данные указывают на низкий риск развития метаболического синдрома, диабета и сердечно-сосудистых заболеваний.

Последние данные [Kuk J.L., 2018; Garvey W.T., 2016] позволяют переосмыслить схемы патогенеза ожирения и по-новому оценить роль лабораторных предикторов и маркеров патологических состояний. Традиционно считается, что абдоминальное ожирение (АО) является ведущим фактором в комбинации рисков, объединенных понятием метаболический синдром (МС). Прогрессирование МС инициирует развитие диабета и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [Hinnouho G.M., 2015; Eckel N., 2018; Caleyachetty R., 2017]. Отдельные компоненты МС могут формировать самостоятельные поражения органов - мишеней и провоцировать развитие атеросклероза, поражений сердца (гипертрофия левого желудочка), печени (неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП)) и почек. Наряду с серьезным вниманием к механизмам развития МС, диабета 2-го типа, атеросклероза, остаются недостаточно освещенными другие возможные клиничко-лабораторные синдромы, в частности нарушения взаимоотношения функции и структуры печени в генезе «здорового» и «патологического» ожирения. Нерешенность проблемы подчеркивают, в частности, авторы руководства по ожирению Американской ассоциации эндокринологов [ААСЕ/АСЕ, 2016 г.], а также авторы клинических рекомендаций по диагностике, лечению и наблюдению пациентов с НАЖБП, опубликованных в 2016 г. Согласно мнению специалистов Европейских ассоциаций по изучению болезней печени (EASL), диабета (EASD) и ожирения (EASO), у пациентов с инсулинорезистентностью (ИР) и/или наличием метаболических факторов риска (МФР) необходимо провести диагностику НАЖБП (степень А1) и определить стадию жировой дегенерации печени (ЖДП), так же как у всех лиц со стеатозом необходимо исключить компоненты МС (степень А1) [Garvey W.T., 2016; EASL–EASD–EASO, 2016]. Известно о широкой распространенности людей как с патологией печени, так и с избытком массы тела. По данным эпидемиологического проекта DIREG 2 это состояние избыточного питания диагностируют у 67% амбулаторных пациентов из 50 тыс. обследованных россиян, а распространенность ЖДП в виде неалкогольного стеатоза печени составляет 28% [Ивашкин В.Т., 2015].

Таким образом, ожирение может быть как предвестником или признаком формирования МС, сахарного диабета 2-го типа и других патологических состояний, так и ассоциироваться со «здоровым» ожирением.

Разработка и использование критериев клинической лабораторной диагностики как в целях профилактики, так и диагностики поражения отдельных органов представляется крайне актуальной и корреспондирует с программой профилактики неинфекционных заболеваний - стратегическим направлением развития российского здравоохранения на ближайшие годы. На ранних этапах развития ожирения и повышенной функциональной нагрузке на печень изменение образа жизни, контроль над факторами риска и терапевтические методы позволяют воздействовать на метаболические нарушения, устраняя их.

Степень разработанности темы

Успехи научного поиска лабораторных предикторов ранней, доклинической диагностики патологических состояний обуславливают смену парадигмы здравоохранительной деятельности как профилактической медицины.

Разработка этого направления применительно к различным аспектам проблемы ожирения и его последствий определяется их значением в развитии социально значимых неинфекционных заболеваний [Chalasanani N., 2012; EASL-ALEN, 2015; Ashwell M., 2016; Hosseinpanah F., 2016], что характеризует не только медицинскую, но и существенную медико-экономическую актуальность.

Ключевым вопросом становится выявление предикторов поражения и ранняя диагностика повреждения внутренних органов при ожирении. С учетом массового распространения ожирения в российской популяции первостепенное значение приобретает разработка методов скрининга и оценка их экономической целесообразности, а также эффективности проводимых мероприятий [Ивашкин В.Т., 2015; Пальгова Л.К., 2017; Медведев Д.А., 2018]. В патогенетической цепочке оценка нарушений структурно-функциональных характеристик печени как ключевого органа в реализации механизмов ожирения остается недостаточно изученной.

Все предлагаемые методы неинвазивной (МРТ, эластография, индекс ожирения печени (Fatty Liver Index (FLI), SteatoTest и пр.) и инвазивной диагностики нарушений структуры печени (пункционная биопсия печени с гистологическим исследованием) дорогостоящи и/или ориентированы на диагностику дегенерации печени в стадии фиброза [Chalasanani N., 2012; Poynard T., 2012; EASL-EASD-EASO, 2016; Crossan C., 2015; Dulai P.S., 2016; Li Q., 2018], поэтому не могут быть рекомендованы для применения в качестве скринингового метода с целью своевременной профилактики и ранней диагностики жировой дегенерации печени.

Особую методологическую проблему составляет интерпретация пороговых значений референтных интервалов лабораторных параметров, которая включает когорту лиц, относящихся к пациентам с доклинической патологией, либо здоровых лиц, относящихся к группе риска развития патологии.

Помимо поиска новых предикторов как средств прогноза наличия или развития патологии и биомаркеров как специфических лабораторных признаков патологических состояний определение оптимальных точек отсечения пороговых значений для принятия клинического решения (decision limit – cut-off), верификация предсказательной ценности, клинической чувствительности и специфичности предикторов ЖДП у лиц с АО является актуальной научной проблемой с учетом перехода практического здравоохранения на широкое использование клинических рекомендаций.

В отличие от референтных границ, представляющих характерный для референтных индивидуумов диапазон значений, специфичных для использованной процедуры, пределы решения используются для принятия диагностических и терапевтических клинических решений и определяются путем консенсуса между экспертами на основе анализа результатов исследований предсказательной ценности, клинической чувствительности и специфичности теста [Меньшиков В.В., 2014]. Поэтому значения пределов референтного интервала и клинического значения могут не совпадать и часто отличаются. Пороги решения по интерпретации результатов лабораторных анализов в схожих клинических ситуациях часто негармонизированы в клинических протоколах и стандартах. В частности, в клинических рекомендациях РФ распространены разные критерии при оценке липидного профиля по уровню холестерина липопротеинов высокой плотности (ХсЛПВП) [Национальные клинические рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом, 2013; Шляхто Е.В., 2016; Ивашкин В.Т., 2016] и индексу инсулинорезистентности НОМА-IR. Возможность применения различных индексов для оценки сердечно-сосудистого риска (например, коэффициента накопления продуктов липидов (Lipid Accumulation Product, LAP), индекса висцерального ожирения (Visceral Adiposity Index, VAI) и пр.) мало изучена для использования у пациентов в РФ.

Следует признать необходимость проведения комплексных исследований, посвященных изучению доклинической стадии патологии, ассоциированной с ожирением, поиску лабораторных предикторов для ранней диагностики заболеваний и определение их порогов клинического решения. Этим определяется возможность создания новых технологий превентивной лабораторной диагностики для оценки состояния организма в норме, в состоянии функциональных отклонений и патологии [Медведев Д.А., 2018].

Цель исследования

Определить информативность лабораторных показателей в качестве предикторов для диагностики жировой дегенерации печени у лиц с абдоминальным ожирением.

Задачи исследования:

1. Изучить изменения биохимических показателей крови и расчетных индексов (соотношение ТГ/ХсЛПВП, НОМА-IR, QUICKI, CARO, метаболический индекс (МИ), коэффициент LAP, индекс FLI, индекс VAI) у обследованных лиц при наличии или отсутствии абдоминального ожирения.

2. Оценить взаимосвязь лабораторных показателей у здоровых людей с абдоминальным ожирением и у обследованных лиц с жировой дегенерацией печени.

3. Исследовать изменения кишечной микробиоты, в том числе этанол образующей микрофлоры, у лиц с абдоминальным ожирением и установить связь с изменениями лабораторных показателей и значениями расчетных индексов.

4. Определить связь изменений лабораторных показателей и расчетных индексов с характеристиками абдоминального ожирения (дисфункцией висцеральной жировой ткани, антропометрическими показателями).

5. Разработать статистическую модель прогнозирования выраженности жировой дегенерации печени для раннего выявления жировой дегенерации печени при абдоминальном ожирении. Установить пределы клинического решения лабораторных показателей и расчетных индексов для диагностики жировой дегенерации печени при абдоминальном ожирении.

Научная новизна

Научная новизна исследования заключается в изучении лабораторных показателей здоровых лиц с АО без клинических признаков сопутствующей ожирению патологии с целью определения эффективных предикторов и биомаркеров ЖДП.

Установлено, что АО при отсутствии метаболических нарушений характеризуется умеренной стадией ЖДП при отсутствии значимых изменений лабораторных показателей по сравнению с пороговыми значениями. Выбор системы оценки метаболических факторов риска достоверно влияет на оценку стадии ЖДП. Значение ХсЛПВП как дополнительный критерий для диагностики МС разграничивает умеренную и выраженную стадию жировой дегенерации печени.

Изучено наличие связи метаболических нарушений функции печени при АО с особенностями метаболизма бактерий, что сопровождается увеличением продукции эндогенного алкоголя. Выявлено, что изменение внешней среды оказывает влияние культуральные свойства микроорганизмов, в том числе на изменение способности *Escherichia spp.* к продукции этанола (получен патент на изобретение «Способ подавления микроорганизмов и низкодифференцированных клеток человека» (№ 2673554 Федеральная служба по интеллектуальной собственности РФ, дата публикации заявки № 2017 110 360: 28.09.2018 Бюл. № 28)).

Разработана модель прогнозирования выраженной жировой дистрофии печени для ранней диагностики ЖДП с поражением более 32% гепатоцитов на основе расчетного индекса «Предиктор СП32» (заявка на изобретение № 2018 124 749 от 05.07.2018 г., решение о выдаче патента № 2684201 от 21.02.2019 г.).

Проведена оценка предсказательной ценности, клинической чувствительности и специфичности лабораторных анализов и расчетных индексов для диагностики ЖДП. Определена эффективность предикторов и лабораторных биомаркеров ЖДП, что имеет важное значение для развития превентивной медицины.

Среди изученных лабораторных параметров и расчетных индексов наибольшее значение для ранней диагностики ЖДП у лиц с АО представляет предиктор СП32, который оптимально характеризует жировую дегенерацию печени с поражением более 32% гепатоцитов.

Теоретическое и практическое значение работы

Результаты расширяют представление о последовательности биохимических изменений, доступных для измерения лабораторными методами, и этапах развития сопутствующих ожирению патологий. Их необходимо использовать для научного развития профилактического направления превентивной медицины, внедрения в практику врачей лабораторной диагностики и специалистов по внутренним болезням с акцентом на предупреждение, раннее выявление и своевременную диагностику ЖДП.

Установлены предсказательная ценность, клиническая чувствительность и специфичность лабораторных маркеров (триглицериды, общий холестерин, ХсЛПВП), применяемых в соответствии с клиническими рекомендациями. Показано, что необходима гармонизация пределов клинического решения для повышения чувствительности и специфичности этих тестов при АО.

Предложен новый расчетный индекс «Предиктор СП32» для ранней диагностики ЖДП с поражением более 32% гепатоцитов у лиц с АО, основанный на использовании 4 независимых переменных: коэффициента LAP, учитывающего окружность талии по гендерному признаку и концентрацию триглицеридов, уровней АЛТ, глюкозы натощак, ХсЛПВП. Предиктор СП32 при значениях $>0,69$ ед. сравним по чувстви-

тельности и специфичности с инструментально - диагностическими методами первой линии диагностики и направлен на обеспечение доступности и высокого качества диагностики этой патологии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Установлена роль количественных лабораторных показателей в клинических индексах, позволяющих прогнозировать развитие жировой дегенерации печени.

2. Одним из механизмов развития метаболических нарушений при абдоминальном ожирении является изменение активности этанол продуцирующей микрофлоры кишечника.

3. Для диагностики степени нарушения функции печени при абдоминальном ожирении целесообразно использовать оригинальную модель, защищенную патентом Российской Федерации.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа основана на клиническом наблюдении 162 обследованных. Методологической основой диссертационной работы явилось последовательное применение методов научного исследования, включающих: аналитический метод (теоретический анализ) – изучение литературы по проблеме исследования; эмпирические методы – наблюдение, сравнение, логический анализ. Работа выполнена в дизайне проспективного сравнительного исследования с использованием клинических, лабораторных, аналитических и статистических методов обработки полученных данных. Исследование одобрено Комитетом по этике ГБОУ ВПО СПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. У всех участников было получено информированное согласие перед началом исследования.

Личный вклад автора

Автором проведен анализ литературы, который позволил выявить научную проблему, разработать идею работы, сформулировать цель исследования, определить задачи и методы, разработать план исследования. Сбор и обработка клинических данных проведена совместно с д.м.н. Н.Л. Денисовым и врачом-терапевтом Е.В. Чернецовой. Получение, интерпретация, статистическая обработка, анализ, обобщение результатов исследований, формулирование выводов, обоснование решений и практических рекомендаций, представленных в диссертации, выполнены автором лично.

Внедрение в практику

Получено 2 патента: № 2673554 «Способ подавления микроорганизмов и низкодифференцированных клеток человека» (Петров В.А., Иванов А.О., Безкишкий Э.Н., Корноухова Л.А., Ерошенко А.Ю., Шатов Д.В.); № 2684201 «Способ скрининговой диагностики жировой дегенерации печени при абдоминальном ожирении» (Корноухова Л.А., Денисов Н.Л., Гриневич В.Б., Эмануэль В.Л.).

Результаты выполненной работы внедрены в практическую и научно-исследовательскую деятельность в Клинике высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», АО «Северо-Западный центр доказательной медицины», медицинский центр ФГБОУ ВО «Государственный университет морского и речного флота имени адмирала С.О.Макарова», ФГБУ «Консультативно-диагностический центр с поликлиникой» Управления делами Президента РФ, СПбБУЗ «Городская больница №38 им. Н.А. Семашко» и в учебные процессы на кафедре клинической лабораторной диагностики с

курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава РФ.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность результатов исследования обусловлена глубоким изучением научных публикаций согласно теме диссертационной работы, применением совокупности современных методов соответственно цели, задачам и логике исследования, качественным анализом исходных данных, достаточной мощностью выборки для проведения статистического анализа, корректными методами статистической обработки, обоснованностью научных положений и выводов, представлением основных результатов исследования в профессиональной печати и докладах на научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, опубликовано 5 научных статей, получено 2 патента на изобретение.

Апробация работы осуществлялась в форме докладов, сообщений, в том числе стендовых, на научно-практических конференциях разных уровней: на Всероссийской научно-практической конференции «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» МЗ РФ, 11–12 мая 2017 г.), 19-м Международном Славянско-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург-Гастро-2017» (15-17 мая 2017 г.), Российско-китайском Конгрессе по медицинской микробиологии, эпидемиологии и клинической микологии «Кашкинские чтения» (Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» МЗ РФ, 14-16 июня 2017 г.), III Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 11-13 октября 2017 г.), 25th United European Gastroenterology Week (October 28 – November 1, 2017 г., Barcelona, Spain, Venue: Fira Gran Via), научно-практическом Форуме «Лабораторные технологии в оценке качества жизни» (Санкт-Петербург, 6-7 июня 2018 г.).

Структура диссертации

Диссертация изложена на 128 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, описания характеристики больных, материалов и методов исследования, глав с описанием собственных данных, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы. Работа иллюстрирована 14 рисунками и 36 таблицами. Список литературы включает 99 иностранных и 30 отечественных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В соответствии с целью исследования реализована следующая последовательность действий:

1. Разработаны критерии включения и исключения обследованных из исследования (табл. 1). Исследование проведено с соблюдением правил GCP и Хельсинской декларации ВМА «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта», одобрено Комитетом по этике ФГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Состояние здоровья обследованных оценивалось в процессе периодических профилактических медицинских осмотров (Приказ № 302н от 12.04.2011 г.) в специализированном отделении Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», АО «Северо-Западный центр доказательной медицины».

Таблица 1

Дизайн исследования

Этап	1-й этап	2-й этап
Название	Скрининговое исследование	Сравнительное исследование
Объект	Медицинская документация	Человек
Критерии включения	- Данные об индексе массы тела Кетле (ИМТ, пороговое значение - 25,0 кг/м ²);	- Наличие абдоминального ожирения или его отсутствие (для группы сравнения);
Критерии исключения	- Сведения об отсутствии злоупотребления алкоголем; - Наличие отрицательных результатов дополнительных исследований (тест на наркотики и алкоголь)	- Добровольное согласие на участие в исследовании; - Возраст не менее 18 лет; - Возраст не более 60 лет
Критерии исключения	- Заболевания печени; - Клинические признаки атеросклероза; - Заболевания сердечно-сосудистой системы атеросклеротического генеза; - Артериальная гипертензия; - Сахарный диабет; - Хронические заболевания почек; - Другие заболевания внутренних органов, выявленные в процессе скрининга; - Состояние после хирургических операций в течение 6 месяцев; - Лабораторные признаки употребления наркотических веществ	- Наличие вредных привычек: употребление алкоголя в дозах 40 г этанола в день для мужчин и 20 г для женщин. - Заболевания печени; - Клинические признаки атеросклероза; - Заболевания сердечно-сосудистой системы атеросклеротического генеза; - Артериальная гипертензия; - Сахарный диабет; - Хронические заболевания почек; - Другие заболевания внутренних органов, выявленные в процессе скрининга; - Состояние после хирургических операций в течение 6 месяцев; - Лабораторные признаки употребления наркотических веществ
Объем	Не менее 300	Не менее 100

2. На этапе скрининга проанализированы данные профилактических медицинских осмотров. Отбор проводили по критериям: наличию информации об индексе массы тела Кетле (ИМТ, пороговое значение - 25,0 кг/м²), сведений об отсутствии злоупотребления алкоголем, отрицательных результатов дополнительных исследований (тест на наркотики и алкоголь) с учетом критериев исключения (табл. 1). Включено 262 человека с ожирением или избыточным весом и 100 - с нормальным весом.

3. В сравнительное исследование включено 162 человека, подтвердивших при анкетировании отсутствие злоупотребления алкоголем с учетом рекомендованных норм ВОЗ (менее 40 г этанола в день для мужчин и 20 г для женщин), из них 133 - с ожирением или избыточным весом и 29 - с нормальным весом.

У обследованных получено письменное согласие для участия в исследовании и проведена оценка жалоб, анамнеза, физикальные исследования (определение антропометрических параметров (измерение окружности талии (ОТ), массы тела, роста, ИМТ), аускультация, измерение артериального давления), анкетирование, электрокардиография, проведены осмотры врачами-специалистами (терапевт, невролог, психиатр-нарколог, офтальмолог, хирург, стоматолог, оториноларинголог, дерматолог).

Всем включенным в обследование выполнены следующие лабораторные тесты: аланин-аминотрансфераза (АЛТ), аспартат-аминотрансфераза (АСТ), гамма-глутамил-трансфераза (ГГТ), общий билирубин (ОБ), глюкоза крови натощак (ГЛ), триглицериды (ТГ), общий холестерин (ОХс), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХсЛПВП) и низкой плотности (ХсЛПНП), клинический анализ крови. Все лабораторные исследования проведены на базе лаборатории АО «Северо-Западный центр доказательной медицины».

Использованы следующие критерии отбора: АО определено путем измерения окружности талии (у женщин $ОТ \geq 80$ см и ≥ 94 см у мужчин [EASL–EASD–EASO, 2016]), при наличии информированного согласия на участие в исследовании и отсутствии критериев исключения. На основании полученных результатов по критериям включения и исключения из 162 обследованных сформированы группы:

- 108 здоровых лиц с АО;
- 23 здоровых человека без АО.

Выявлен 31 больной с ССЗ и АО, из которых сформировали группу сравнения.

Учитывая необходимость определения метаболических нарушений у лиц с АО, проведена оценка наличия лабораторных критериев МС. При выборе точек отсечения компонентов МС учитывались требования нескольких документов [Критерии МС АНА/IDF/NHLBI/IAS/WHF/IASO, 2009; Национальные клинические рекомендации по ведению больных с МС (КР по ведению больных с МС), 2013; Рекомендации EASL–EASD–EASO по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени, 2016]. Дополнительные факторы метаболического риска (МФР_{доп}) учитывались согласно критериям КР по ведению больных с МС (2013) следующим образом: $ТГ \geq 1,7$ ммоль/л, $ХсЛПВП_{муж.} < 1$ ммоль/л и $ХсЛПВП_{жен.} < 1,2$ ммоль/л, $ХсЛПНП > 3,0$ ммоль/л, уровень глюкозы натощак $\geq 6,1$ ммоль/л. Уровень артериального давления $\geq 140/90$ мм рт.ст. или прием антигипертензивных средств- критерий исключения из исследования. Обследованные с менее двух МФР_{доп} считались метаболически «здоровыми», с двумя МФР_{доп} или более определялись как метаболически нездоровые.

В итоге здоровые лица с АО были разделены по количеству МФР_{доп}. Для работы выбраны рекомендации, позволившие включить наименьшее количество лиц с АО в группу метаболически «здоровых»: 23 человека вместо 31. Это позволило сформировать две группы исследования:

1. 23 человека группы метаболически «здорового» фенотипа абдоминального ожирения (МЗФАО);
2. 85 обследованных группы метаболически нездорового фенотипа абдоминального ожирения (МНЗФАО).

Группы сравнения сформировали участники, отнесенные к патологии (больные ССЗ с АО, n = 31) и к норме (здоровые лица без АО, n = 23).

Для определения стадии поражения печени, учета стадии ЖДП, исключения фиброза всем обследованным выполнены расчеты по алгоритму FibroMax и/или SteatoScreen (в соответствии с патентом RU 2 403 576 C2 компании BioPredictive,

Франция), оценка этих результатов проведена в совокупности с данными ультразвукового исследования печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, селезенки и почек. Исследован аполипопротеин А1 (апо А1), аполипопротеин В (апо В), высокочувствительный С-реактивный белок (hsCRP), гомоцистеин, инсулин натощак, альфа2-макроглобулин, гаптоглобин, кишечная микробиота. Дуплексное сканирование каротидных артерий проведено с целью оценки изменений в сосудистой стенке.

Оценка распределения обследованных указывает на однородность групп исследования по возрасту и степени ожирения (по массе тела, ИМТ и ОТ) (табл. 2).

Клиническая характеристика обследованных представлена в таблице 3.

Таблица 2

Количественные характеристики обследованных по возрасту, степени ожирения, артериальному давлению

Параметр	МЗФАО, n=23		МНЗФАО, n=85		Патология, n=31		Здоровые без АО, n=23	
	Ме	95% ДИ	Ме	95% ДИ	Ме	95% ДИ	Ме	95% ДИ
Возраст, лет	49	39 - 53	48	43 - 50	49	43- 56	42	35-48
Вес, кг	80,0	70,1 –91,0	89,0	86,0 - 92,0	95,2	86,6-103,3	65,0*	56,0-70,0
ИМТ, кг/м ²	28,4	26,5 - 33,1	31,2	30,1-32,6	32,8	31,3 - 34,5	22,7*	20,9-23,7
ОТ, см	97,0	93,4 - 98,4	100,0	96,0-103,0	101,3	98,5-105,9	84*	82,0-85,0
САД, мм рт. ст.	120,1	115,2-128,3	123,1	117,5-128,7	143,8	137,6-163,4	117,4	110,6 - 125,1
ДАД, мм рт. ст.	72,0	69,4-78,1	72,3	67,2-77,4	93,1	83,3-105,6	71,2	70,0-76,3
Мужчин/женщин	9/14		22/63		10/21		9/14	

Примечание: Ме - медиана, МЗФАО - метаболически «здоровый» фенотип абдоминального ожирения, МНЗФАО - метаболически нездоровый фенотип абдоминального ожирения, Патология - больные с абдоминальным ожирением, Здоровые без АО - здоровые без абдоминального ожирения. ИМТ - индекс массы тела, ОТ- окружность талии, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление. Знаком (*) отмечены статистически значимые различия с группой МЗФАО: $p < 0,05$

По результатам проведенного исследования все пациенты в соответствии с показаниями получили рекомендации по изменению образа жизни, снижению массы тела, наблюдению у врачей-специалистов по клиническим протоколам [Garvey W.T., 2016; EASL–EASD–EASO, 2016; ESC/EAS Guidelines, 2016].

В ходе исследований получены следующие индексы: соотношение ТГ/ХсЛПВП (NCEP-АТР III, 2001); индекс инсулинорезистентности НОМА-IR по формуле D.R. Matthews (1985); QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) по A. Katz (2000 г.); CARO по формуле F. Caro (1991 г.); метаболический индекс (МИ) по Г.Е. Ройтбергу и соавт. (2014 г.); коэффициент LAP по H. Kahn et al. (2005 г.); индекс FLI по формуле G. Bedogni и соавт. (2006 г.); индекс VAI по M.C. Amato et al. (2010 г.). Взятие крови производили из локтевой вены утром натощак после не менее чем 12 часов голодания. Все анализы определены в сыворотке или плазме. Анализ биохимических параметров тестов выполнялся при помощи стандартизированных методов на автома-

тических анализаторах Olympus AU- 5800 фирмы «Beckman Coulter» (Германия), Liaison фирмы «DiaSorin» (Италия), Architect i2000 «Abbott» (США). Реактивы поставлены компанией-производителем анализаторов, если не указано иное. В обязательном порядке проводился внутренний контроль и внешний контроль качества.

Таблица 3

Базовые характеристики обследованных, n (%)

Параметр	Группа МЗФАО, n=23	Группа МНЗФАО, n=85	Группа патологии, n=31	Здоровые без АО, n=23
Нормальная масса тела (ИМТ: менее 25,0 кг/м ²)	4 (17)	2 (2)	0 (0)	23 (100)
Избыточная масса тела (ИМТ: 25,0 – 29,9 кг/м ²)	8 (35)	28 (33)	6 (7)	0 (0)
Ожирение I ст. (ИМТ: 30,0 – 34,9 кг/м ²)	8 (35)	35 (41)	11 (13)	0 (0)
Ожирение II ст. (ИМТ: 35,0 – 39,9 кг/м ²)	3 (13)	12 (14)	9 (11)	0 (0)
Ожирение III ст. (ИМТ: более 40 кг/м ²)	0 (0)	8 (9)	5 (6)	0 (0)
Нарушение гликемии натощак: концентрация глюкозы $\geq 6,1$ и $< 7,0$ ммоль/л	0 (0)	20 (24)	21 (68)	0 (0)
Общий холестерин $> 5,2$ ммоль/л	12 (52)	60 (71)	31 (100)	3 (13)
Триглицериды $> 1,7$ ммоль/л	7 (30)	59 (69)	24 (77)	5 (22)
ХсЛПВП _{муж} < 1 ммоль/л ХсЛПВП _{жен} $< 1,2$ ммоль/л	4 (17)	47 (55)	24 (77)	0 (0)
Средняя толщина комплекса интимамедиа общей сонной артерии ≥ 1 мм	0 (0)	37 (44)	28 (90)	0 (0)
Уровень артериального давления $\geq 140/90$ мм рт. ст. или прием антигипертензивных средств	0 (0)	0 (0)	14 (45)	0 (0)
Курение	6 (26)	23 (27,0)	8 (25,8)	3 (13,0)
Малоподвижный образ жизни (субъективная оценка обследованных)	7 (30,4)	32 (37,6)	16 (51,6)	6 (26,0)

Примечание тоже, что и в табл.2

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием статистического пакета Portable Statistica 8 (StatSoft, США), MedCalc (MedCalc Software, Бельгия) и программы Microsoft Exel (Microsoft, США). Уровень статистической значимости исследования составлял 5% (или 0,05). Используются параметрические методы для нормального распределения (дисперсионный анализ, t-критерий Стьюдента), в остальных случаях - непараметрические методы (критерии Вилкоксона, Манна–Уитни). Для описания представлены абсолютные числа и проценты, значения медианы (Me) и 95% доверительного интервала (95 ДИ%), значения p. Оценка взаимосвязи признаков проводилась с использованием метода корреляции Пирсона (для параметрического семейства) или Спирмена. Оценка операционных параметров тес-

тов по четырехпольным таблицам сопряженности (табл. 4); диагностическая точность - по характеристическим кривым (ROC) с использованием метода ДеЛонга (DeLong's method, 1988, для вычисления среднеквадратичного отклонения ROC-кривой (Area Under the Curve, AUC) и индекса Юдена (Youden index J).

Уровень статистической мощности для лабораторных параметров: общего холестерина, триглицеридов, ХсЛПВП, ХсЛПНП, апо А1, апо В, коэффициента АпоВ/АпоА1, глюкозы натощак, hsСРБ, средней толщины КИМ общей сонной артерии – высокий: $(1 - \beta) = 1,0$.

Таблица 4

Формулы расчета операционных параметров тестов (Кишкун А.А., 2009)

Критерий	Формула	Критерий	Формула
Se, %	$a / (a + c) \times 100;$	ДЭ, %	$(a + d) / (a + b + c + d) \times 100;$
Sp, %	$d / (b + d) \times 100;$	АВБ	$(a + c) / (a + b + c + d) \times 100;$
+PV, %	$a / (a + b) \times 100;$	+LR	$(a / (a + c)) / (b / (b + d));$
-PV, %	$d / (c + d) \times 100;$	-LR	$(c / (a + c)) / (d / (b + d));$

Примечание: a - истинноположительный результат, b - ложноположительный результат, c - ложноотрицательный результат, d - истинноотрицательный результат. Se - диагностическая чувствительность %, Sp - диагностическая специфичность %, +PV - предсказательная ценность положительного результата, -PV - предсказательная ценность отрицательного результата, ДЭ - диагностическая эффективность - доля истинных результатов среди всех результатов, АВБ - Априорная вероятность болезни - доля больных в обследуемой группе, +LR - Отношение правдоподобия положительного результата, -LR - Отношение правдоподобия отрицательного результата

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Лабораторная характеристика абдоминального ожирения при отсутствии метаболических нарушений

В число лиц со здоровым ожирением, то есть с АО без МФР_{доп} (7 человек, 30,4% от группы МЗФАО), составило 6,5% от общего количества здоровых пациентов с АО. Это сопоставимо с результатами других исследователей, указывающими на 6-10% обследованных с ожирением без нарушения обмена веществ [Kuk J.L., 2018, Eckel N., 2018]. Мы установили, что для этих лиц характерен умеренный стеатоз (6-32%) печени (медиана Steatotest составила 0,60 ед., табл.5), указывающий на наличие метаболических нарушений функции печени, возможно связанных с выявленными особенностями метаболизма бактерий, сопровождающимися увеличением продукции эндогенного алкоголя (подробно указано в п. «Лабораторная характеристика этанол продуцирующей микробиоты при абдоминальном ожирении»), а также изменением глутатионового цикла вследствие активации процессов перекисного окисления липидов. Это находит отражение в достоверном повышении уровня ГГТ у лиц с метаболически «здоровым» ожирением по сравнению с нормальным весом (42,1 Е/л vs 24,6 Е/л) и не сопровождается превышением верхнего значения референтного интервала.

Статистически достоверных различий между группами метаболически «здорового» ожирения и здоровых без АО по уровням лабораторных биомаркеров не выявлено, медианы большинства изученных показателей не превышают пороговых значений, АСТ ≤ АЛТ. Отсутствуют синхронно изменяющиеся и взаимозависимые лабораторные параметры.

Таблица 5

Базовые характеристики при метаболически «здоровом» фенотипе ожирения

Параметр	Критерии интерпретации	МЗФАО ¹ , n=23		МЗФАО ² , n=31		Здоровые без АО, n=23	
		Me	95% ДИ	Me	95% ДИ	Me	95% ДИ
Возраст, лет		49	39 - 53	50	38,3 - 52,4	42	35-48
Вес, кг		80,0	70,1 - 91,0	89,0	79,5 - 90,3	65,0*	56,0-0,0
ИМТ, кг/м ²		28,4	26,5 - 33,1	28,6	26,7 - 32,1	22,7*	20,9-3,7
ОТ, см		97,0	93,4 - 98,4	97,0	94,0 - 98,4	84,0*	82,0-5,0
Результат Steatotest, ед.	≤0,38	0,58	0,43 - 0,60	0,69	0,60 - 0,74 p = 0,0158	0,23*	0,18 -,29
Стадия стеатоза по SteatoTest	S 0	S 2	S 1- S 2	S 3	S 2 - S 3	S 0*	S 0 – S 0
ТКИМОСА, мм	<0,9 мм	0,73	0,66 - 0,76	0,8	0,75 - 0,84	0,68	0,60 - 0,73
Глюкоза, ммоль/л	4,1 - 5,9	5,02	4,75 - 5,30	5,23	5,00 - 5,59	5,06	4,82-5,22
АЛТ, Е/л	до 45	30,0	23,0 - 52,9	48	27,3 - 79,2	21,5	16,4-55,4
АСТ, Е/л	до 35	31,0	22,0 - 49,9	33	25,9 - 67,8	24,7	20,4-43,0
ГГТ, Е/л	до 55	42,1	33,0 - 61,9	51	37,0 - 56,2	24,6*	15,7 - 29,9
Инсулин, мкМЕ/мл	3,21 - 6,32	7,03	5,30 - 12,1	9,2	6,58 - 12,7	4,4	2,0-9,3
Холестерин общий, ммоль/л	< 5,2	5,51	4,30 - 5,90	5,8	5,45 - 6,16	4,92	3,91-5,78
Триглицериды, ммоль/л	<1,7	1,32	0,99 - 2,00	1,51	1,29 - 2,06	0,80	0,73 - 1,02
ХсЛПВП, ммоль/л	Муж >1,0 Жен. >1,2	1,4	1,10 - 1,49	1,3	1,10 - 1,40	1,62	1,02-2,46
ХсЛПНП, ммоль/л	< 2,6	2,5	2,00 - 2,99	2,8	2,25 - 3,10	3,10	1,52-4,13

Примечание . 1- МЗФАО - 2013 по Национальным клиническим рекомендациям (2013 г.), 2 - МЗФАО-2009 по Клиническим рекомендациям (AHA /IDF/NHLBI/ IAS/WHF/IASO, 2009; EASL/EASD/EASO, 2016). AHA - Американская кардиологическая ассоциация, IDF- Международная федерация диабета, NHLBI - Национальный институт сердца, легких и крови, IAS - Международное общество атеросклероза, WHF - Всемирная кардиологическая федерация, IASO - Международная ассоциация по изучению ожирения, EASL - Европейская ассоциация по изучению болезней печени, EASD - Европейская ассоциация по изучению диабета, EASO - Европейская ассоциация по изучению ожирения, ОТ- Окружность талии, ТКИМОСА - толщина КИМ общей сонной артерии, Стадия стеатоза по SteatoTest: S0/ S0-S1 - нет стеатоза (<1%), S1 /S1-S2 - минимальный стеатоз (1 - 5%), S2/S2-S3 - умеренный стеатоз (6 - 32%), S3 - выраженный стеатоз (>32%). Знаком (*) отмечены статистически значимые различия с группой МЗФАО¹: p < 0,05

Установлено, что метаболически «здоровым» пациентам с АО, в зависимости от применяемых клинических рекомендаций по диагностике МС, сопутствует разная выраженность неалкогольного стеатоза печени. Значение ХсЛПНП > 3,0 ммоль/л как дополнительный критерий МС разграничивает умеренную и выраженную стадию жировой дегенерации печени ($p < 0,05$).

По мнению авторов, в связи с этим, для лиц с неполным набором критериев метаболического синдрома, более корректно вместо метаболически «здорового» ожирения (“metabolically healthy obese”, [Garvey W.T., 2016]) применять «ожирение без метаболического синдрома» или «ожирение с сопутствующими метаболическими нарушениями (одним или несколькими)».

Лабораторная оценка метаболических нарушений при абдоминальном ожирении

Характеристика лабораторных различий обследованных с разными метаболическими фенотипами АО представлена в таблице 6. Изученные лабораторные биомаркеры имеют достоверные различия между группами, при метаболически нездоровом фенотипе на 20-30% отличаются от пороговых значений (пределов решений клинических руководств или референтных интервалов) и могут использоваться в доклинической диагностике с разной точностью, зависящей от выбора точек отсечения. Вместе с тем, ни один лабораторный маркер не может быть предложен в качестве лабораторного предиктора при оценке ранних отклонений в состоянии здоровья. Расчетные индексы демонстрируют большую точность в оценке инсулинорезистентности, чем уровень глюкозы и инсулина натощак. На доклинической стадии патологические изменения не ассоциированы с изменением аполипопротеинов А1 (апо А1) и В (апо В).

Гендерные статистически значимые различия между с разными метаболическими фенотипами выявлены для мужчин и женщин по показателям липидного обмена, расчетным индексам (коэффициент LAP ($p < 0,005$), индекс VAI ($p < 0,001$)), уровню гомоцистеина ($p < 0,01$), а также показателями высокочувствительного С-реактивного белка (hsCRP) у мужчин ($p < 0,01$).

Таблица 6

Лабораторная характеристика обследованных с абдоминальным ожирением

Параметр	МЗФАО, n=23		МНЗФАО, n=85	
	Me	95% ДИ	Me	95% ДИ
Глюкоза, ммоль/л	5,02	4,75 - 5,30	5,54	5,34 - 5,79 $p = 0,018 < 0,05$
Индекс НОМА-IR, ед.	1,81	1,05 - 2,53	3,3	2,58 - 4,31 $p = 0,012 < 0,05$
Триглицериды, ммоль/л	1,32	0,99 - 2,00	2,7	2,15 - 3,14 $p < 0,0001$
Холестерин общий, ммоль/л	5,51	4,30 - 5,90	6,97	6,72 - 7,20 $p < 0,0001$
Апо В, г/л	1,04	0,83 - 1,29	1,02	0,89-1,1
ХсЛПНП, ммоль/л	2,50	2,00 - 2,99	4,0	3,80 - 4,30 $p < 0,0001$
ХсЛПВП, ммоль/л	1,4	1,10 - 1,49	0,7	0,67 - 0,86 $p < 0,0001$
Апо А 1, г/л	1,07	0,80 - 1,22	1,04	1,01-1,06 $p = 0,05$
hsCRP, мг/л	2,2	1,20 - 2,89	3,6	3,10 - 4,26 $p = 0,02$

Примечание. МЗФАО - метаболически «здоровый» фенотип абдоминального ожирения, МНЗФАО - метаболически нездоровый фенотип абдоминального ожирения

Выявлена связь средней силы между наличием дополнительных метаболических факторов риска ($MFR_{доп}$) и достоверные статистически значимые различия между анализируемыми группами обследованных по показателям ЖДП: медианы значений по результатам Steatotest (0,6 vs 0,8 ед., $p < 0,0001$; $r = 0,6$, $p < 0,001$), индекса ожирения печени FLI (1,8 vs 7,2 ед., $p < 0,001$; $r = 0,6$, $p < 0,001$), коэффициента LAP (48,3 vs 90,6 ед., $p < 0,0001$; $r = 0,6$, $p < 0,001$). Вместе с тем, метаболический индекс (4,3 vs 23,1 ед., $p < 0,0001$; $r = 0,8$, $p < 0,001$), коэффициент ТГ/ХсЛПВП (1,2 vs 3,2 ед., $p < 0,0001$; $r = 0,8$, $p < 0,001$), индекс VAI (1,5 vs 4,2 ед., $p < 0,0001$; $r = 0,7$, $p < 0,001$) и предиктор СП32 (0,6 vs 0,8 ед., $p < 0,0001$; $r = 0,7$, $p < 0,0001$) имеют сильную связь с количеством дополнительных факторов метаболического риска. Информация о предикторе СП32 подробно изложена в п. «Предикторы жировой дегенерации печени».

Лучшей логистической моделью для оценки МНЗФАО стало использование двух переменных: концентрации триглицеридов ($p = 0,019$; OR 6,9 [95%ДИ 1,4 – 34,5]) и уровня ХсЛПВП ($p = 0,0007$; OR 18,9 [95%ДИ 3,5 – 104,1]). Предсказательная ценность данной модели - 89,7%, AUC=0,97, $p < 0,0001$. Это соответствует данным о механизме нарушения липидного метаболизма [Титов В.Н., 2014; Либис Р.А., 2014; Лутов Ю.В., 2017]. По мнению авторов, это подтверждает литературные данные о нескольких патогенетических путях развития МС [Чумакова Г.А., 2014; Лутов Ю.В., 2017]: через висцеральную дисфункцию жировой ткани и/или инсулинорезистентность, - а также отражает, что на доклиническом этапе формирование МС с меньшей чувствительностью диагностируется с помощью изменения окружности талии, уровня глюкозы натощак и оценкой инсулинорезистентности.

Взаимосвязь метаболических нарушений и изменений лабораторных показателей и расчетных индексов с жировой дегенерацией печени, дисфункцией висцеральной жировой ткани, инсулинорезистентностью

Висцеральная жировая дисфункция (ВЖД) по индексу VAI при использовании критериев M.C.Amato et al. (2011) характерна для группы МНЗФАО ($p < 0,0001$). ВЖД выявлена у 24% обследованных группы МЗФАО, среди МНЗФАО у 11% обследованных отмечена легкая степень ВЖД и 73% - характеризуются тяжелой степенью ВЖД по индексу VAI. ВЖД достоверно реже сочетается с метаболически «здоровым» ожирением (отношение шансов (OR) 0,089, 95% ДИ: 0,031 – 0,26, $p < 0,0001$).

Не выявлено зависимости между наличием ВЖД и антропометрическими показателями (ОТ ($p = 0,09$), ИМТ ($p = 0,74$)). Среди изучаемых параметров только уровень глюкозы и метаболический индекс продемонстрировали связь с ВЖД ($p < 0,05$).

При использовании ОТ для антропометрической оценки висцеральной жировой ткани при АО, как одного из основных критериев МС, выявлены гендерные различия диагностической точности подобной модели, полученные определением значений площади под ROC-кривой (area under the receiver operating characteristic curve, AUC): $AUC_{от_{муж}} = 0,85$, $AUC_{от_{жен}} = 0,65$, - которая отражает не только степень висцерального ожирения, но и толщину инертной подкожной жировой ткани, что подтверждает потребность поиска новых маркеров и подчеркивает преимущество лабораторной оценки АО.

Уровень VAI при АО для лиц категории МЗФАО достоверно ниже и составляет 1,5 [$\pm 0,8$, 95%ДИ] ед., по сравнению с пациентами МНЗФАО 4,2 [$\pm 2,1$, 95%ДИ] ед. ($p < 0,001$). В зависимости от количества выявленных $MFR_{доп}$ у обследованных с абдоминальным ожирением выявлено нарастание уровня VAI.

Логистическая модель достоверно показывает ($p < 0,0001$, $AUC=0,965$), что при формирующемся МС статистическую значимость имеют только изменения показателей дисфункции висцеральной жировой ткани: индекс VAI ($p= 0,009$) и показатель ЖДП - результат SteatoTest ($p= 0,002$). Инсулинорезистентность не оказывает непосредственного влияния на формирующийся МС ($p_{НОМА-IR} = 0,25$). Результаты научного исследования демонстрируют, что именно патологические изменения в печени и висцеральная жировая дисфункция формируют метаболически нездоровый фенотип абдоминального ожирения. Можно предположить, что механизм формирования МС через ВЖД более ранний, а следовательно, МС сложнее будет поддаваться коррекции, чем при развитии МС, индуцированным потерей чувствительности тканей к инсулину. Предлагаемая концепция формирования МС различными генетически обусловленными механизмами, компоненты которых определены в ходе исследования и доступны для лабораторного изучения, позволяет дифференцировать природу возникновения МС и адекватно проводить лечебные мероприятия.

Предикторы жировой дегенерации печени

Среди обследованных здоровых лиц с АО только у 1 (0,01%) пациента отсутствует ЖДП (жировая дистрофия менее 1% гепатоцитов). Показатель ЖДП - результат SteatoTest - достоверно выше при МНЗФАО ($p= 0,0001$), соответствуя выраженному стеатозу в более 32% гепатоцитов.

Среди лабораторных параметров и индексов наибольшую степень корреляционной связи с ЖДП в более чем 32% гепатоцитов (далее стеатоз печени ($СП>32\%$)), определенной по результатам FibroMax и/или SteatoScreen, демонстрирует коэффициент ТГ/ХсЛПВП ($r= 0,5$; $p < 0,0001$), имеющий достоверные различия значений между МЗФАО и МНЗФАО ($p < 0,005$). Наиболее значимые различия между группами обследованных выявлены для: коэффициент LAR ($p < 0,0005$; $r= 0,4$, $p < 0,0005$), метаболический индекс ($p < 0,001$; $r= 0,4$, $p < 0,0005$), индекс VAI ($p < 0,0005$; $r= 0,4$, $p < 0,0005$), индекс НОМА-IR и индекс QUIСKI ($p < 0,0005$). Традиционные показатели ЖДП демонстрируют меньший уровень статистической достоверности при определении $СП>32\%$ при средней силе взаимосвязи ($r= 0,4$): уровень триглицеридов ($p < 0,05$), ХсЛПВП ($p < 0,005$) и ХсЛПНП ($p < 0,05$).

Для изучения комплексного влияния группы независимых показателей на результат определения стадии ЖДП использовано математическое моделирование с применением множественной линейной регрессии. В качестве зависимой переменной рассматривался результат Steatotest. Оптимальной моделью линейной регрессии для оценки $СП>32\%$ стало использование 4 независимых переменных, совокупный вклад которых в оценку ЖДП составляет 40%: LAR ($p=0,0096$), уровень АЛТ ($p=0,0024$), глюкозы натощак ($p=0,0104$), ХсЛПВП ($p=0,0463$), - $p < 0,0001$ (заявка на изобретение №2018124749 от 05.07.2018 г., решение о выдаче патента от 21.02.2019 г.).

Предиктор стеатоза печени более 32% (далее предиктор СП32) демонстрирует достоверные различия значений медиан между контрольной и исследуемой группой: 0,65 [95%ДИ 0,61 – 0,69] ед. vs 0,75 [95%ДИ 0,72 – 0,79] ед., $p < 0,0001$). Достоверных различий по полу не выявлено: для мужчин медиана значений составила 0,75 [95%ДИ 0,69 – 0,87] ед., для женщин 0,72 [95%ДИ 0,70 – 0,74] ед., $p=0,12$). Предлагаемый предиктор СП32 проявляет статистически достоверную корреляционную связь с маркерами липидного обмена, инсулинорезистентности, наибольшую степень корреляционной связи с предиктором СП32 демонстрирует коэффициент ТГ/ХсЛПВП ($r= 0,7$;

$p < 0,0001$). Оптимальная точка отсечения не имеет гендерных различий, соответствует значению $>0,71$ ед (Se- 68 %, Sp- 88 %).

Преимуществом предиктора СП32 является доступность с использованием рутинно выполняемых лабораторных параметров, выполняемые в любом учреждении, и результаты клинических методов обследования (измерение веса, роста, окружности талии). Разработанный предиктор ЖДП должен стать показанием для углубленного лабораторного и инструментального обследования пациента.

Лабораторные маркеры метаболических нарушений

Сравнение двух логистических моделей оценки метаболических нарушений при АО, одна из которых базируется на критериях национальных клинических рекомендаций (2013), а вторая использует только Предиктор СП32, продемонстрировало характеристики:

- сочетание традиционно учитываемых факторов, состоящих из оценки окружности талии, уровня триглицеридов, глюкозы натощак, ХсЛПНП и ХсЛПВП (уровень артериального давления $\geq 140/90$ мм рт.ст. или прием антигипертензивных средств- критерий исключения из научного исследования) корректно классифицирует 89% обследованных ($p < 0,0001$), оценка площади под ROC-кривой свидетельствует о высокой дискриминационной характеристике модели ($AUC=0,957$). Только уровень триглицеридов ($p < 0,001$, OR = 9,9, 95%ДИ 2,5 и 39,6) и глюкозы крови натощак ($p < 0,02$, OR= 6,3, 95%ДИ 1,4 - 29,7) статистически значимо влияют на оценку метаболических нарушений.

- предиктор СП32 достоверно выявляет метаболические нарушения ($p < 0,0001$), корректно классифицирует 88% обследованных ($p < 0,0001$), оценка площади под ROC-кривой также свидетельствует о высокой дискриминационной характеристике модели ($AUC=0,922$).

Это показывает дополнительные возможности разработанного показателя «Предиктор СП32» при оценке метаболически нездорового ожирения.

Лабораторная характеристика этанол продуцирующей микробиоты при абдоминальном ожирении

В ходе исследования ЖДП при АО проведена оценка пейзажа кишечной микрофлоры и этанол продуцирующей факультативной и облигатной анаэробной микробиоты, при культивировании в анаэробных условиях, изучена связь изменений кишечной микробиоты и биохимических показателей.

Мы выявили что *Escherichia spp.*, *Bacteroides* и *Clostridium* способны производить этанол, что в совокупности может создавать значительную нагрузку для печени. Это подтверждается результатами сравнения: при ЖДП с поражением более 32% гепатоцитов на 46% видов этанол продуцирующих микроорганизмов на пациента больше, чем при отсутствии/умеренном гепатозе. При проведении экспериментов по определению лучшего состава газовых сред для анаэробного культивирования выявлено, что изменение внешней среды оказывает влияние культуральные свойства микроорганизмов (характер роста, биохимические, морфологические признаки), в том числе на изменение способности *Escherichia spp.* к продукции этанола. В ходе этого изучения нами получен патент на изобретение «Способ подавления микроорганизмов и низкодифференцированных клеток человека» (№2673554). Выявлена взаимосвязь

повышения инсулина крови с изменением белковых структур клеток *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* ($p < 0,05$ и $p < 0,001$ соответственно).

Считаем необходимым при изучении микробного пейзажа давать качественную характеристику смешанно-кислому брожению в анаэробных условиях, основным продуктом которого является этанол, для анаэробных микроорганизмов и грамотрицательных энтеробактерий. Несмотря на то что уровень эндогенного алкоголя определяется выше референтного предела, но в допустимом интервале, при котором отсутствует токсическое действие на функции мозга [Кишкун А.А., 2009; Hafez E.M., 2017], необходимо учитывать продукцию спирта кишечной микробиотой при проведении лабораторных исследований для оценки содержания сывороточного алкоголя.

Валидация лабораторных предикторов для диагностики жировой дегенерации печени при абдоминальном ожирении

Среди изученных лабораторных параметров и расчетных индексов наибольший интерес для ранней диагностики ЖДП у лиц с АО представляют несколько тестов ($AUCs > 0,752$, $p < 0,0001$): метаболический индекс (МИ), индекс VAI и, разработанный в рамках исследования, предиктор СП32.

С целью валидации интегральных предикторов сформирована группа проверки диагностической работоспособности предикторов ($n=135$), в соотношении 17% здоровых и 83% больных, данное распределение наблюдений практически равноценно (в %) соотношению группы исследования МЗФАО/МНЗФАО (21% и 79%). Валидация предикторов подтвердила высокую диагностическую точность выбранных маркеров для превентивной диагностики: $AUC_{\text{Предиктор СП32}} = 0,910$, $AUC_{\text{МИ}} = 0,843$, - за исключением индекса VAI (табл.7). Меньшая точность характерна для разного рода сочетаний тестов липидного обмена ($AUC < 0,83$).

Предиктор СП32 характеризуется высокой диагностической точностью для дифференцирования ЖДП между отсутствием/умеренным поражением гепатоцитов vs. выраженного/тяжелого стеатоза: $AUC_{\text{Предиктор СП32}} = 0,910$ (95% ДИ 0,837 – 0,958), сравнимой с возможностями дополнительного ультразвукового контролируемого параметра затухания (Controlled Attenuation Parameter, CAP (Sasso M., 2012)) в составе эластографической системы «Fibroscan» (стадия S0–1 vs. S2–3, $AUC_{\text{CAP}} = 0,934$ (95% ДИ 0,883 – 0,994), [Karlas T., 2014]). Предлагаемая точка отсечения Предиктора СП32 при значениях $> 0,69$ ед. обладает высокой диагностической чувствительностью и специфичностью (81% и 88% соответственно) сравнимой с результатами инструментально- диагностических методов первой линии диагностики (для УЗИ печени чувствительность и специфичность при дифференцировке умеренного/выраженного стеатоза составляет 85,7% и 85,2%, [Bohte A.E., 2011]).

Валидация других расчетных индексов указывает на возможность применения для диагностики ЖДП метаболического индекса ($AUC_{\text{МИ}} = 0,843$), однако он уступает по чувствительности и специфичности (76% и 78% соответственно) инструментально-диагностическим исследованиям, меньшая диагностическая точность соответствует индексу VAI ($AUC_{\text{VAI}} = 0,783$) и разного рода сочетаниям тестов липидного обмена ($AUC < 0,83$). Традиционные лабораторные маркеры (ТГ, ОХс, ХсЛПВП), применяемые в соответствии с клиническими рекомендациями, мало информативны для доклинической патологии ($0,7 < AUC < 0,8$; $p < 0,005$ соответственно). Установлено, что существует потребность в гармонизации пределов клинического решения для повышения чувствительности и специфичности этих тестов для лиц с АО.

Оценка площади под ROC-кривыми

Переменные	AUC	SE ^a	95% ДИ ^b
Предиктор СПЗ2, ед.	0,910	0,0350	0,837 - 0,958
Метаболический индекс (МИ), ед.	0,843	0,0372	0,770 - 0,900
ТГ >1,7 ммоль/л и глюкоза \geq 5,6 ммоль/л	0,825	0,0367	0,749 - 0,885
Триглицериды, ммоль/л	0,821	0,0437	0,745- 0,882
Холестерин общий, ммоль/л	0,813	0,0409	0,737 - 0,876
Индекс VAI, ед.	0,784	0,0439	0,705 - 0,851
ХсЛПНП, ммоль/л	0,784	0,0513	0,705 - 0,851
ТГ >1,7 ммоль/л и гендерное снижение ХсЛПВП	0,741	0,0557	0,658 - 0,813
ХсЛПВП, ммоль/л	0,712	0,0513	0,627 - 0,787

^a DeLong et al., 1988, ^b Binomial exact

Результаты исследования представляют практический интерес, поскольку полностью соответствуют создаваемой модели оказания медицинской помощи в рамках концепции превентивной медицины, утвержденной как стратегия социального развития России до 2014 г. (Медведев Д.А., 2018), и объективно указывают на возможность ранней диагностики ЖДП и кардио-васкулярных нарушений у лиц с АО для проведения профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на предотвращение прогрессирования заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Среди обследованных с абдоминальным ожирением 6,5 % лиц не имеют нарушений обмена веществ. Не выявлено достоверных различий по уровням лабораторных биомаркеров между здоровыми лицами без ожирения и метаболически «здоровыми» лицами с абдоминальным ожирением. При метаболически нездоровом фенотипе абдоминального ожирения биохимические показатели имеют достоверные отличия по показателям липидного обмена (общий холестерин, триглицериды, ХсЛПВП ($p < 0,005$ соответственно), ХсЛПНП ($p < 0,001$)), уровню гомоцистеина ($p < 0,01$), расчетным индексам (коэффициент LAP ($p < 0,005$), индекс VAI, НОМА-IR и Caro ($p < 0,001$ соответственно)).

2. С жировой дегенерацией печени при абдоминальном ожирении связаны изменения показателей: ХсЛПВП, ХсЛПНП, триглицеридов, глюкозы, АЛТ, коэффициента LAP ($p < 0,05$ соответственно). Значение ХсЛПНП $> 3,0$ ммоль/л как дополнительный критерий разграничивает умеренную и выраженную стадию жировой дегенерации печени ($p < 0,05$).

3. Выявлена взаимосвязь повышения инсулина крови с изменением белковых структур клеток *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* ($p < 0,05$ и $p < 0,001$ соответственно). При культивировании изменение внешней среды оказывает влияние на культуральные свойства микроорганизмов (характер роста, биохимические, морфологические признаки), в том числе на изменение способности *Escherichia spp.* к продукции этанола.

4. Индекс VAI для определения висцеральной жировой дисфункции, отражающий гендерные различия по окружности талии, индексу массы тела, концентрации триглицеридов и ХсЛПВП, высоко эффективен для выявления метаболических нару-

шений при абдоминальном ожирении ($p < 0,0001$). Индекс НОМА-IR как модель оценки гомеостаза для выявления инсулинорезистентности не рекомендован для раннего выявления метаболических нарушений при абдоминальном ожирении ($r_{\text{НОМА-IR}} = 0,25$).

5. Среди изученных лабораторных параметров и расчетных индексов наибольшее значение для диагностики жировой дегенерации печени с поражением более 32% гепатоцитов у лиц с абдоминальным ожирением представляет «Предиктор СП32» ($AUC_{\text{СП32}} = 0,931$; $p < 0,0001$). Традиционные лабораторные маркеры (триглицериды, общий холестерин, ХсЛПВП), применяемые в соответствии с клиническими рекомендациями, менее информативны ($0,71 < AUC < 0,82$; $p < 0,005$ соответственно). Установлено, что предиктор СП32 наиболее информативен для диагностики жировой дегенерации печени при значениях $> 0,69$ ед.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачу клинической лабораторной диагностики рекомендовано:

1. При внедрении в клиническую практику лабораторных исследований и расчетных показателей проводить оценку информативности с установлением пределов клинических решений с учетом профиля лечебного учреждения.

2. При проведении лабораторных исследований для оценки содержания сывороточного алкоголя учитывать продукцию кишечной микробиотой спирта. При получении ложно-положительных результатов необходимо изучение микробного пейзажа и качественная оценка смешанно-кислого брожения в анаэробных условиях для анаэробных микроорганизмов и грамотрицательных энтеробактерий.

Врачу общей практики, терапевту, врачу клинической лабораторной диагностики рекомендовано:

1. Пациентам с абдоминальным ожирением независимо от наличия метаболических факторов риска проводить неинвазивную диагностику и определение стадии жировой дегенерации печени с использованием лабораторных предикторов.

2. Для диагностики жировой дегенерации печени применять предиктор СП32 при значениях $> 0,69$ ед. При превышении этого показателя назначить углубленное инструментально-диагностическое обследование печени и сформировать программу динамического мониторинга.

3. При проведении диспансеризации пациентам с абдоминальным ожирением и повышением триглицеридов более 2,27 ммоль/л назначать углубленное лабораторное и инструментально-диагностическое обследование печени для выявления жировой дегенерации печени.

Профессиональным медицинским ассоциациям:

1. Определить и согласовать пределы клинического решения для принятия диагностических и терапевтических клинических решений на основании оценки лабораторных показателей и расчетных индексов и внести изменения в клинические рекомендации.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшее изучение проблемы ранней лабораторной диагностики ЖДП является перспективным научным направлением, требующим решения, как минимум, следующих задач: выявление лабораторных предикторов ЖДП с поражением 6-32%

гепатоцитов (1 стадия - умеренный жировой гепатоз) у лиц с ожирением и нормальным весом (при наличии и отсутствии метаболических нарушений), а также разных возрастов (детей, подростков, молодых и пр.), оценка возможности использования для мониторинга ЖДП в ходе лечения, для отбора доноров при трансплантации печени.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ по научной специальности диссертации:

1. Денисов, Н.Л. Неалкогольная жировая болезнь печени. Современный диагностический подход / Денисов Н.Л., Гриневич В.Б., Чернецова Е.В., Кравчук Ю.А., **Корноухова Л.А.** // Медицинский алфавит. - 2016. - Т. 3, 24 (287). - С. 46-51.

2. **Корноухова, Л.А.** Значение предикторов кардиоваскулярных нарушений у пациентов с абдоминальным ожирением, неалкогольной жировой болезнью печени и различными компонентами метаболического синдрома / **Корноухова Л.А.** // Медицинский алфавит. - 2017. - Т. 1, 6 (303).- С.51-56.

3. Денисов, Н.Л. Неалкогольная жировая болезнь печени как новая компонента метаболического синдрома в свете современных методов диагностики / Н.Л. Денисов, В.Б. Гриневич, Е.В. Чернецова, **Л.А. Корноухова**, Ю.А. Кравчук, С.А. Парцерняк, А.Н. Мироненко. // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И.Мечникова. – 2017. - Т. 9, 1. -С.34-41.

4. Денисов, Н.Л. Современные концепции патогенеза атеросклеротического поражения сосудистой стенки у пациентов с абдоминальным ожирением и различными формами неалкогольной жировой болезни печени / Денисов Н.Л., Гриневич В.Б., Чернецова Е.В., **Корноухова Л.А.**, Вострикова Е.Б., Чуприна С.В., Потапова И.В. // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. - 2017. - Т. 12, 1.- С.57-62.

5. **Корноухова, Л.А.** Лабораторные предикторы стеатоза печени у пациентов с абдоминальным ожирением / **Корноухова Л. А.**, Денисов Н. Л., Эмануэль В. Л. // Вестник Санкт-Петербургского государственного университета. Серия 11. Медицина. - 2018.- Т. 3, 4.- С. 376- 388.

- патенты

6. **Пат.** 2673554 Российская Федерация, МПК А61L 9/015 (2006.01) Способ подавления микроорганизмов и низкодифференцированных клеток человека / Петров В.А., Иванов А.О., Безкишкий Э. Н., **Корноухова Л. А.**, Ерошенко А. Ю., Шатов Д. В.; - № 2017 110 360; заявл. 28.03.2017; опубл: 28.09.2018. Электрон.версия печ.публ. Бюл. изобр. № 28.- Доступ с сайта ФГУ ФИПС.

7. **Пат.** 2684201 Российская Федерация, МПК А61В 5/153 (2006. 01)Способ скрининговой диагностики жировой дегенерации печени при абдоминальном ожирении / **Корноухова Л.А.**, Денисов Н.Л., Гриневич В.Б., Эмануэль В.Л.; - № 2018 124749; заявл. 05.07.2018; опубл: 04.04.2019. Электрон.версия печ.публ. Бюл. изобр. № 10.- Доступ с сайта ФГУ ФИПС.

Прочие научные публикации:

8. **Корноухова, Л.А.** Оценка лабораторных маркёров донозологической кардио-васкулярной патологии у пациентов с абдоминальным ожирением / **Корноухова Л.А.**, Денисов Н.Л., Чернецова Е.В., Эмануэль В.Л. // Лабораторная служба. - 2017. - Т.6, 3. - С. 39-40.

9. **Корноухова, Л.А.** Инсулинорезистентность и внутривидовое типирование / **Корноухова Л.А.** // Проблемы медицинской микологии. - 2017. – Т. 19, 2. - С.88-88.

10. Безкишкий, Э.Н. Влияние аргоносодержащих гипоксических газозвоздушных сред, обеспечивающих повышение пожаробезопасности герметизируемых объектов, на их санитарно-эпидемическое состояние / Безкишкий Э.Н., Иванов А.О., Петров В.А., **Корноухова Л.А.**, Ерошенко А.Ю.// Авиакосмическая и экологическая медицина – 2018. - Т.52, спецвыпуск. - С. 21-23.

11. Денисов, Н.Л. Изучение ранних клинико-лабораторных предикторов патологии печени у пациентов с абдоминальным ожирением / Денисов Н.Л., **Корноухова Л.А.**, Чернецова Е.В., Эмануэль В.Л. // В сборнике: Боткинские чтения Всероссийской научно-практической конференции. - С-Пб., 2017.- С. 72-74.

12. **Корноухова, Л.А.** Ранние маркеры кардио-васкулярных нарушений у пациентов с абдоминальным ожирением/ **Корноухова Л.А.**, Денисов Н.Л., Чернецова Е.В., Эмануэль В.Л. // В сборнике: Боткинские чтения Всероссийской научно-практической конференции - С-Пб., 2017.- С. 136-138.

13. Безкишкий, Э.Н. Микробиологическая оценка перспектив применения аргоносодержащих газозвоздушных сред, снижающих пожароопасность обитаемых гермообъектов / Безкишкий Э.Н., **Корноухова Л.А.**, Слесарев Ю.М., Качанов П.Т., Грошилин С.М., Костылев А.Н.// В сборнике: Новые направления модернизации педагогического образования в формировании здорового образа жизни и безопасности жизнедеятельности: материалы V региональной научно-практической конференции Южного федерального округа 07.12. 2016 г. – Краснодар: ИПЦ КубГУ, 2017. - С. 187-191.

14. Chernetcova, E. Investigation of the relationship between the thickness of the intima-media complex of common carotid arteries and pathological changes in the liver in patients with abdominal obesity and non-alcoholic fatty liver disease/ Chernetcova E., Denisov N., Grinevich V., Kravchuk Y., Ivashkin K., **Kornouchova L.** // Materials of 25th United European Gastroenterology Week- Barcelona, Spain, 2017.- p.115.

15. **Корноухова, Л.А.** Значение лабораторной оценки печени при определении абдоминального ожирения / **Корноухова Л.А.**, Эмануэль В.Л., Денисов Н.Л. // Доказательная гастроэнтерология. - 2018. – Т.7, 2.- С.10-16.

16. **Корноухова, Л.А.** Лабораторные предикторы метаболических нарушений функции печени при ожирении / **Корноухова, Л.А.**, Эмануэль В.Л., Денисов Н.Л. // Доказательная гастроэнтерология. - 2019. - Т. 8, 1. - С.16-22.