

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

БОЛЬБАТ ГЕОРГИЙ КОНСТАНТИНОВИЧ

**КЛИНИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ И МАРКЕРОВ
ФИБРОЗА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ**

3.1.18. Внутренние болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Гейвандова Наталья Иогановна

Ставрополь – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. АЛКОГОЛЬНАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНИРОВАННОСТЬ И МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО ТЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	15
1.1. Употребление алкоголя и риск развития патологии печени	15
1.2. Метаболизм этанола в печени и влияние генетических полиморфизмов на развитие печеночной патологии	15
1.3. Механизмы развития повреждения печени воздействием алкоголя.....	25
1.4. Механизмы фиброгенеза при алкогольной болезни печени	28
1.5. Клинические варианты и лечение алкогольной болезни печени	38
1.6. Основные принципы терапии пациентов с алкогольной болезнью печени	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
2.1. Клиническая характеристика пациентов	45
2.2. Методы исследования	57
ГЛАВА 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ АЛКОГОЛЬ-МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)	67
3.1. Распространенность полиморфизмов гена <i>ADH1B</i> у пациентов с алкогольной болезнью печени	67
3.2. Распространенность полиморфизмов гена <i>ADH1B</i> у пациентов с различными клиническими вариантами АБП	69
3.3. Распространенность полиморфизмов гена <i>ALDH2</i> Glu504Lys у пациентов с алкогольной болезнью печени	73
3.4. Распространенность полиморфизмов гена <i>CYP2E1</i> G-1293C (c1/c2) у пациентов с алкогольной болезнью печени	73

3.5. Распространенность полиморфизмов гена <i>CYP2E1</i> G-1293C (c1/c2) у пациентов с различными клиническими вариантами АБП ...	76
ГЛАВА 4. СЫВОРОТОЧНЫЙ МАРКЕР ФИБРОЗА РПНП У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)	84
4.1. Содержание РПНП в крови пациентов с алкогольной болезнью печени	84
4.2. Содержание РПНП в крови пациентов со стеатозом печени алкогольной этиологии	87
4.3. Содержание РПНП в крови пациентов с алкогольным гепатитом.....	90
4.4. Содержание РПНП в крови пациентов с алкогольным циррозом печени	97
4.5. Взаимосвязи содержание РПНП в крови пациентов с алкогольной болезнью печени и наличием генетических полиморфимов алкоголь-метаболизирующих ферментов	105
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	109
ВЫВОДЫ.....	120
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	122
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	123
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	124
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	126
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	154
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	155

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Алкоголь-ассоциированные заболевания являются наиболее распространенной причиной возникновения и прогрессирования хронических видов патологии печени. Каждый год в мире в связи с злоупотреблением алкоголя умирает 3 млн человек, что составляет 5,3% всех смертных случаев, 13,5% из которых происходит в возрастной группе 20-39 лет [30, 91]. Рост потребления алкоголя за последние 10 лет привел к увеличению экономической нагрузки на здравоохранение, ассоциированной с алкогольной болезнью печени [22]. Алкогольная болезнь печени (АБП) и болезни, возникающие вследствие избыточного употребления алкоголя, значительно снижают производительность труда и способствуют возникновению ряда социальных проблем [41]. В США в 2022 году был подсчитан экономический ущерб от АБП, который оценивался в 31 миллиард долларов, и эта цифра потенциально может удвоиться к 2040 году [216]. Около 2 миллиардов человек употребляют алкоголь во всем мире, более чем у 75 миллионов диагностированы заболевания, связанные с его потреблением, и этот контингент подвержен высокому риску развития алкоголь-ассоциированных заболеваний печени [68]. Тенденции в количестве употребляемого алкоголя тесно коррелируют с тенденциями роста общей смертности от заболеваний печени [210].

Клинические варианты АБП представлены стеатозом, стеатогепатитом и могут прогрессировать до тяжелого фиброза, цирроза печени (ЦП) и гепатоцеллюлярного рака (ГЦР), включают алкогольный гепатит (АГ) тяжелого течения с развитием острой или хронической печеночной недостаточности [22, 84]. В настоящее время АБП является основным показанием для трансплантации печени в США и Европе [149, 171].

Распространенность АБП, мировые тенденции к ее росту, высокие показатели экономического ущерба, вызываемые этой патологией, способность

заболевания прогрессировать до стадий цирроза печени и гепатоцеллюлярного рака определяют чрезвычайную актуальность темы исследования.

Степень разработанности темы исследования

Между потреблением алкоголя и АБП существует зависимость «доза-эффект», но только у части злоупотребляющих алкоголем людей развивается АБП, что указывает на важную роль генетических факторов в развитии заболевания [66, 113]. Предполагается влияние генетических полиморфизмов генов α -1 антитрипсина, *PNPLA3*, *TM6SF2*, *MBOAT7* и некоторых других [55, 200]. И все же особое внимание клиницистов-исследователей направлено на изучение мутаций генов метаболизирующих алкоголь ферментов: алкогольдегидрогеназы, альдегиддегидрогеназы и «алкогольного» цитохрома P450 2E1.

Наиболее распространенный полиморфизм *ADH1B**2 оказывает влияние на активность энзима, индуцируя усиление метаболизма этанола, ускорение его элиминации, приводя к тяжелому похмельному синдрому [26, 37]. Исследования показывают, что генетические вариации фермента алкогольдегидрогеназы (ADH) ассоциированы со сниженным риском развития алкоголизма у азиатских популяций, поскольку люди с аллелями *2 *ADH* потребляют меньше алкоголя [39, 204]. Однако имеются и противоположные данные, указывающие на связь полиморфизма ADH с развитием заболеваний печени и выраженными нарушениями ее функции [145].

Полиморфизм гена фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH) *ALDH2**2 ведет к снижению активности фермента, накоплению в крови ацетальдегида и непереносимости алкоголя [96]. Накопление ацетальдегида индуцируют повреждение клеток печени [172, 228]. Предполагают, что сочетание полиморфизмов *ALDH2**2 и *ADH1B**2 можно рассматривать как протективную комбинацию в развитии алкогольного ЦП [55].

При хроническом чрезмерном приеме алкоголя возникает индукция микросомального пути метаболизма этанола, участником которого является цитохром 2E1 (CYP2E1) [144]. Многие исследования демонстрировали, что гомозиготный генотип *CYP2E1* G-1293C c2/c2 связан с повышенным риском развития АБП в популяциях алкоголиков во многих странах по сравнению с алкоголиками без АБП [54, 82, 103, 200].

Данные о встречаемости разных генотипов алкоголь-метаболизирующих ферментов различаются и зависят от этнической принадлежности обследуемых и клинических форм АБП. В регионе Северного Кавказа подобные исследования не проводились.

Течение АБП часто протекает латентно вплоть до появления клинических признаков портальной гипертензии и декомпенсации функции печени. Такие пациенты имеют значительный риск развития неблагоприятных клинических событий и летальных исходов [122, 148]. В их профилактике значение имеет использование неинвазивных маркеров фиброза – как нетравматичных (сравнительно с биопсией печени) и доступных (относительно эластометрии) методик. Для диагностики продвинутого фиброза прямые биомаркеры фиброза (гиалуроновая кислота, ламинин, проколлаген III типа и коллаген IV типа) имеют преимущественную диагностическую ценность относительно косвенных показателей (APRI, FIB-4 и др.) [19]. Результаты прямых тестов позволяют оценить динамику фиброгенеза и демонстрируют корреляцию с выраженностью фиброза [77, 221]. Предпочтение для диагностики интенсивности фиброгенеза отдается коллагену III типа (Col III), а наиболее информативным тестом считается определение его N-концевого пропептида PIIINP [24, 175, 185, 220].

Данные о взаимосвязи отдельных полиморфизмов генов ферментов, метаболизирующих алкоголь, и интенсивностью фиброгенеза в печени практически отсутствуют. Изучение этих зависимостей может внести вклад в понимание патогенетических механизмов АБП и поиск возможных путей терапевтического воздействия и прогрессирования заболевания. Полученные

данные могут быть использованы для выделения групп риска неблагоприятного течения АБП, что является чрезвычайно актуальной клинической задачей.

Цель исследования

Изучить клиническое и прогностическое значение генов алкоголь-метаболизирующих ферментов и маркера фиброза проколлаген-III-пептида у больных алкогольной болезнью печени.

Задачи исследования

1. Определить распространенность олигонуклеотидных полиморфизмов генов *ADH1B* Arg47His, *ALDH2* Glu504Lys и *CYP2E1* G-1293C у больных алкогольной болезнью печени.

2. Установить взаимосвязь изученных генетических полиморфизмов с основными клиническими и лабораторными синдромами при разных клинических вариантах алкогольной болезни печени.

3. Определить содержание проколлаген-III-пептида в крови у больных алкогольной болезнью печени и определить зависимость основных клинико-лабораторных синдромов патологии печени и выраженности фиброза от уровней PIII_{NP}.

4. Изучить влияние полиморфизмов изученных генов на содержание PIII_{NP} в крови пациентов с различными клиническими вариантами алкогольной болезни печени.

5. Оценить взаимосвязь полиморфизмов изученных генов и содержания в крови PIII_{NP} на прогноз заболевания при различных клинических вариантах алкогольной болезни печени, выделить группы больных, имеющих риски неблагоприятных тяжелых исходов, включая развитие гепатоцеллюлярного рака для дифференцированного подхода к лечебной тактике и формирования групп риск-ориентированного мониторинга.

Научная новизна исследования

Впервые одновременно изучены встречаемость олигонуклеотидных полиморфизмов генов *ADH1B*, *ALDH2*, *CYP2E1* параллельно с уровнями в крови РШНР в региональной популяции пациентов с различными клиническими вариантами алкогольной болезни печени.

Впервые продемонстрировано, что тяжелое течение АГ ассоциировано чаще с гетерозиготным генотип *c1/c2* и аллелем *c2* гена *CYP2E1*, чем в группе здоровых, что демонстрирует важность роли микросомального метаболизма алкоголя при потреблении чрезмерных количеств спиртных напитков.

Впервые доказано, что при алкогольном ЦП частота долей генотипа гена *ADH1B* *1/*2 выше, чем у пациентов с АГ тяжелого течения, распространенность минорного аллеля *2 выше относительно здоровых лиц, а генотип *c1/c2* и аллель *c2* *CYP2E1* преобладают при ЦП класса В относительно больных циррозом класса А по Чайлд-Пью, демонстрируя генетическую детерминированность прогрессирования патологии печени.

Впервые обнаружено, что при тяжелом АГ на фоне сформировавшегося цирроза печени и АГ у больных без ЦП содержание в крови РШНР не различалось, имело прямую корреляцию с активностью и тяжестью заболевания, что отражало активность патологического процесса в печени. Показано, что содержание РШНР в крови более 17 нг/мл может служить предиктором неблагоприятного исхода алкогольного гепатита.

Впервые доказано, что у больных АГ тяжелого течения присутствие аллеля *c2* ассоциировано с более высокими показателями РШНР, чем при генотипе *c1/c1* *CYP2E1*.

Впервые выявлено, что у пациентов алкогольным ЦП содержания биомаркера фиброза РШНР в крови имеет максимальные уровни при циррозе печени классов В и С по Чайлд-Пью и находится в прямой корреляции с активностью АсАТ. Доказано, что при ЦП уровень РШНР не прогнозирует выживаемость больных, но отражает общую тяжесть заболевания. Впервые

доказана взаимосвязь повышенных уровней в крови РШНР у больных ЦП с наличием генотипов *ADH1B* *1/*2 и *CYP2E1* c1/c2.

Впервые выявлена положительная корреляционная зависимость 5-летнего риска развития гепатоцеллюлярного рака при алкогольном ЦП с плазменным уровнем РШНР, что определяет необходимость формирования групп пациентов, подлежащих риск-ориентированному наблюдению.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Комплексное изучение полиморфизмов гена *ADH1B* Arg47His, *CYP2E1* G-1293C и содержания РШНР крови пациентов с АБП, обнаружение различий, полученных данных при разных клинических вариантах заболевания и зависимости от стадии фиброза печени углубляют знания о факторах, вызывающих прогрессирования алкогольной болезни печени.

Доказанные факты преобладания аллеля *2 гена *ADH1B* у больных алкогольным ЦП относительно здоровых лиц, тенденции к большим долям генотипа *1/*2 и аллеля *2 при ЦП класса С по Чайлд-Пью сравнительно с циррозом класса А, а также преобладания генотипа c1/c2 и аллеля c2 при циррозе класса В относительно класса А вносят вклад в понимание генетической детерминированности прогрессирования фиброгенеза в печени.

Выявленная зависимость содержания РШНР в крови пациентов с активностью АсАТ и ГГТ при АГ тяжелого течения и от активности АсАТ при ЦП допускают возможность применять данный биомаркер фиброза как дополнительный критерий активности патологического процесса в печени.

Установленные зависимости при тяжелом алкогольном гепатите уровня РШНР более 17 нг/мл и наличие минорного аллеля c2 гена *CYP2E1* с индексом Мэддрэя позволяет использовать эти показатели как дополнительные предикторы неблагоприятного исхода заболевания.

Доказанное наличие наиболее высоких уровней РШНР в крови пациентов с алкогольным ЦП классов В и С по Чайлд-Пью позволяют рекомендовать данный показатель как эффективный неинвазивный биомаркер фиброза.

Выявленный факт зависимости показателя 5-летнего риска развития гепатоцеллюлярного рака от плазменного уровня РШНР позволяет формировать группы для риск-ориентированного мониторинга с целью раннего выявления ГЦР.

Методология и методы исследования

Работа представляет собой прикладное проспективное научное исследование, методологической основой которой явились труды отечественных и зарубежных исследователей, посвященные вопросам патогенеза АБП, сведениям о механизмах токсического влияния этанола на печень, роли генетической предрасположенности, значения неинвазивных биомаркеров в определении стадии фиброза печени. Исследование привело к решению актуальной задачи оптимизации лечебно-диагностических мероприятий, достигаемой путем определения специфических генетических и биологических маркеров, позволяющих прогнозировать неблагоприятное течение и прогрессирование АБП у пациентов.

Объект исследования составили 97 пациентов с алкогольной болезнью печени и 144 практически здоровых добровольца. Предметом исследования явились генетические и биологические маркеры, используемые для диагностики прогрессирования АБП. Применялись общенаучные методы эмпирического исследования (наблюдение, измерение, сравнение), специализированные медицинские (физикальные, лабораторно-инструментальные методики, сбор биологических образцов, иммуноферментный анализ РШНР, генетический анализ полиморфизмов генов *ADH1B* Arg47His, *ALDH2* Glu504Lys и *CYP2E1* G-1293C). Полученные данные обработаны методами статистического анализа.

Локальный этический комитет Ставропольского государственного медицинского университета одобрил работу перед началом исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Отсутствие различия генотипов генов *ADH1B* Arg47His между пациентами с алкогольной болезнью печени и здоровыми лицами, большая встречаемость генотипа c1/c2 гена *CYP2E1* G-1293C и минорного аллеля c2 при алкогольной болезни печени относительно группы контроля, отсутствие полиморфизмов гена *ALDH2* Glu504Lys при алкогольной болезни печени.

2. Различие встречаемости генотипов между клиническими вариантами АБП: увеличение долей генотипа c1/c2 и аллеля c2 гена *CYP2E1* при алкогольном гепатите тяжелого течения сравнительно со здоровыми лицами, большие показатели долей генотипа *ADH1B* *1/*2 у больных циррозом печени относительно больных с тяжелым алкогольным гепатитом и аллеля *2 сравнительно со здоровыми, преобладание частоты генотипа c1/c2 и аллеля c2 гена *CYP2E1* при циррозе печени класса В относительно пациентов класса А.

3. Повышение содержания в крови пациентов с алкогольной болезнью печени РШНР с максимальными значениями при тяжелом алкогольном гепатите и циррозе печени, отсутствие различий в плазменных концентрациях РШНР у пациентов с алкогольным гепатитом на фоне сформировавшегося цирроза и у больных без цирроза печени.

4. Зависимость уровней РШНР у пациентов с тяжелым алкогольным гепатитом от тяжести заболевания и наличия холестатического синдрома, возможность прогнозирования неблагоприятного исхода при концентрации РШНР в сыворотке крови более 17 нг/мл. Взаимосвязь минорного аллеля c2 гена *CYP2E1* с высокими показателями РШНР при тяжелом алкогольном гепатите.

5. Прямая зависимость содержания в крови PIIINP от активности и тяжести цирроза печени, а также связь с гетерозиготными генотипами *ADH1B* *1/*2 и *CYP2E1* c1/c2.

6. Высокий 3-х и 5-летний риск развития гепатоцеллюлярного рака при алкогольном циррозе печени, предполагающий необходимость выделения групп для риск-ориентированного наблюдения.

Степень достоверности исследования

Успешность и надежность данного исследования обусловлены комплексом факторов: достаточный объем выборки и ее корректное формирование, что явилось основой для репрезентативных выводов; задействование современных и высокоинформативных методов диагностики, позволяющих получить максимально полные и точные данные; примененными методами математической обработки данных, полностью соответствующих их характеру, что гарантирует корректный анализ и достоверность полученных результатов. Для статистической обработки полученных данных были задействованы следующие программы: «Microsoft Office Excel 2010» (с модулем «Attestat 10.5.1»), «IBM SPSS Statistics 21».

Выводы и практические рекомендации, представленные в работе, являются логически обоснованными и непосредственно следуют из эмпирических данных

Личный вклад автора в получении научных результатов

Исследователь самостоятельно осуществил поиск патентной информации, провел обзор научной литературы, определил приоритетное научное направление, сформулировал цели и задачи исследования, установил критерии отбора участников исследования, а также разработал методологию и дизайн исследования. Пациенты с АБП были отобраны и включены в

исследование лично автором. Диссертант осуществлял анкетирование пациентов с целью диагностики алкогольной зависимости, анализировал клинику, результаты лабораторно-инструментальных исследований, вносил полученные данные в индивидуальные регистрационные карты. Диссертант лично мониторировал пациентов с АГ и ЦП в течение 7 лет. Путем статистической обработки и систематизации полученных данных, а также их сопоставления с существующей научной литературой, исследователь смог сделать обоснованные выводы и сформулировать практические рекомендации. Разделы диссертации, написанные автором, легли в основу успешного внедрения этих рекомендаций в клиническую практику. Авторский вклад является определяющим в публикациях и докладах, где были представлены результаты работы, свидетельствующие о существенном личном вкладе диссертанта в исследование.

Практическое использование полученных результатов исследования

Полученные диссертантом результаты исследования используются в практической деятельности отделений ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница» г. Ставрополя и ГАУЗ «Городская поликлиника № 3» г. Ставрополя. Данные диссертационной работы применяются в материале лекций и практических занятий со студентами, клиническими ординаторами, врачами и аспирантами кафедры госпитальной терапии и со студентами, клиническими ординаторами, врачами и аспирантами кафедры госпитальной терапии и кафедры поликлинической терапии Ставропольского государственного медицинского университета.

Публикации и апробация результатов работы

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства

науки и высшего образования Российской Федерации («Медицинский алфавит», 2024; «Вестник Дагестанской государственной медицинской академии», 2024; «Медицинский вестник Северного Кавказа», 2025).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Международном молодежном форуме, посвященном 85-летию СтГМУ «Неделя науки – 2023» (Ставрополь, 2023), на XXIX ежегодном международном конгрессе «Гепатология сегодня» (Москва, 2025), на XXX Юбилейном российском гастроэнтерологическом Конгрессе (Москва, 2024), XVIII и XX Национальных Конгрессах терапевтов, (Москва, 2023, 2025), на совместном заседании кафедр госпитальной терапии и факультетской терапии (Ставрополь, 2025).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.18. – Внутренние болезни. Результаты исследования соответствуют области исследования данной специальности, пунктам 1-3.

ГЛАВА 1. АЛКОГОЛЬНАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНИРОВАННОСТЬ И МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО ТЕЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Употребление алкоголя и риск развития патологии печени

Хроническое употребление алкоголя является важной причиной смертности во всем мире. В 2019 году из-за АБП было потеряно 11 миллионов человеко-лет жизни по всему миру. Рост числа смертей и количества человеко-лет жизни с поправкой на инвалидность, связанных с АБП, вызывает тревогу мировой медицинской общественности [30, 41]. Существует зависимость между приемом алкоголя и не менее 200 нозологий, к которым относятся гастрит, панкреатит, сердечно-сосудистые заболевания, цирроз печени, ГЦР и рак желудка. Болезни, связанные с избыточным приемом спиртных напитков, зависят от объема потребляемого алкоголя, характера и периодичности употребления, а также качества потребляемого алкоголя [30, 114, 115, 194].

В США одиннадцатой по значимости причиной смерти в 2000-2019 годах стал именно ЦП, а причиной примерно половины смертей, ассоциированных с циррозом, был алкоголь [74]. Всего уровень летальности от цирроза печени любой этиологии составил 14,6 смертей на 100 000 человек, тогда как показатель смертности от цирроза печени, связанного с алкоголем, составил 7,3 на 100 000 [74].

1.2. Метаболизм этанола в печени и влияние генетических полиморфизмов на развитие печеночной патологии

Метаболизм алкоголя – это сложный процесс, включающий всасывание, распределение и элиминацию. Более 90% потребляемого этанола метаболизируется ферментной системой печени: алкогольдегидрогеназой, альдегиддегидрогеназой, цитохромом P450 2E1 и каталазой. Биоразложение

этанола включает его окисление до ацетальдегида, катализируемое алкогольдегидрогеназами. Затем ацетальдегид превращается в ацетат и воду с помощью альдегиддегидрогеназы [1, 95, 228].

Этанол всасывается в желудочно-кишечном тракте, из которого он транспортируется в печень, где и реализуется метаболизм 90% алкоголя. От 2 до 10% алкоголя метаболизируется в легких и почках [60, 228]. В метаболизме алкоголя в печени участвуют три системы. Наиболее важным является АДН, которая обнаруживается в цитозоле гепатоцитов. Она катализирует образование ацетальдегида путем переноса водорода из ОН-группы к никотинамидному кофактору NAD^+ (никотинамидадениннуклеотидфосфат, окисленная форма) для преобразования последнего в восстановленную форму – $NADH$, а далее, через реакцию гидрирования, в $NADPH$ (никотинамидадениннуклеотидфосфат) [60, 108].

Окисление ацетальдегида до ацетата, катализируемое ферментом $ALDH$, генерирует избыток $NADH$. Это, в свою очередь, нарушает равновесие между $NADH$ и NAD^+ , что имеет существенные последствия для метаболизма углеводов и липидов. В частности, повышенный уровень $NADH$ ингибирует транспорт СЖК и способствует образованию этерифицированных жирных кислот за счет их реакции со спиртами. В результате полиненасыщенные ЖК распадаются с выделением водорода. Доступность NAD , необходимого для транспортировки СЖК, ограничивается избыточной концентрацией $NADH$. Ацетат включается в цикл Кребса в виде ацетилкоэнзим А, но, если он не включается в цикл Кребса, его избыточное накопление может привести к образованию кетоновых тел, приводящих к кетонурии и кетонемии [60].

Второй путь метаболизма – это микросомальная система окисления этанола. Это индуцируемая система, в которой участвует $CYP450$ в микросомах печени, имеет важное значение для метаболизма. При потреблении алкоголя в больших количествах активируется транскрипция гена $CYP2E1$, происходит распад этанола до ацетальдегида с потреблением в процессе фосфорилированного NAD или восстановленного $NADPH$ и кислорода. С

помощью микросомального пути метаболизируется от 3% до 8% потребляемого этанола [195].

Третий путь метаболизма этанола происходит в пероксисомах гепатоцитов с помощью фермента каталазы. Здесь превращение этанола в ацетальдегид происходит путем перекисного окисления в присутствии перекиси водорода с превращением, в итоге, последнего в воду. Этот путь метаболизма этанола перерабатывает всего лишь около 2% алкоголя [228].

Существует и неокислительный метаболизм алкоголя. Этанол метаболизируется без окисления двумя путями; первая реакция, катализируемая ферментом синтазой этилового эфира жирных кислот, что приводит к образованию этиловых эфиров жирных кислот. Во втором пути реакция с ферментом фосфолипазой D приводит к образованию фосфолипида, известного как фосфатидилэтанол [43]. Этот путь является важнейшим компонентом клеточной коммуникации. Метаболизм алкоголя включает как окислительные, так и неокислительные взаимосвязанные пути. Когда окисление этанола ингибируется посредством ингибирования ферментов, усиливается неокислительный метаболизм наряду с увеличением этиловых эфиров жирных кислот в печеночной и панкреатической паренхиме [43, 139].

1.2.1. Ферменты, метаболизирующие алкоголь, и роль их олигонуклеотидных полиморфизмов в патологии печени

Алкогольдегидрогеназа. ADH – фермент, состоящий из двух субъединиц, который кодируют гены *ADH1*, *ADH4*, *ADH5*, *ADH6* и *ADH7*, расположенные на длинном плече хромосомы 4 (4q21-24) [123]. Соответствующие гены отвечают за различные субъединицы печеночной ADH. Именно субъединицы, α , β , γ , π и χ , определяют 12 изоферментов [195]. Изоферменты классифицированы в 5 классов (I-V). В печени присутствуют классы I-III ADH, но преобладают три изофермента класса I [177]. Изоферменты

алкогольдегидрогеназы – ADH1A, ADH1B и ADH1C – гомологичны в 80% своих последовательностей [214].

Ферменты ADH представляют собой димеры массой 40 кДа (килодальтон), которые содержат цинк и зависят от NAD. Они принадлежат к семейству ферментов дегидрогеназы и редуктазы, которые катализируют окисление алкоголя с образованием альдегида или кетона ADHs класса I, который включает ADH1A, ADH1B и ADH1C наиболее часто встречается в печени. ADH II класса присутствуют в низких концентрациях в печени, а ADH III класса обнаруживаются во всех тканях, но не очень тесно связаны с метаболизмом алкоголя [174, 189]. ADH1A преобладает в первом триместре внутриутробного развития. После рождения экспрессия *ADH1B* и *ADH1C* усиливается [60]. Контроль активности ADH является сложным процессом и включает диссоциацию продукта NADH, которая является стадией, ограничивающей скорость, и ингибирование продукта NADH и ацетальдегидом [73].

Изофермент ADH1B экспрессируется из *ADH1B*1* ($\beta1\beta1$) аллель дикого типа, который присутствует более чем у 90% кавказской (европеоидной) популяции. Вариантный аллель *ADH1B*2* возникает в результате замены ARG47HIS, обусловленной мутацией R47H G- >A (именуется R48H). Мутация 47H является наиболее распространенным полиморфизмом *ADH1B*, при этом аллель *ADH1B*2* ведет к повышению скорости катаболизма алкоголя и обуславливает повышенную чувствительность к алкогольному отравлению.

Имеются сведения о распространенности *ADH1B*2* ($\beta2\beta2$) в азиатских популяциях с частотой около 70%, тогда как у жителей Африки доля генотипа *ADH1B*3* ($\beta3\beta3$) составляла примерно 16% [25]. Большую каталитическую активность обеспечивают изоферменты ADH1B и ADH1C, которые являются вариациями аминокислотной цепи в своих ферментах.

Альдегиддегидрогеназа. Альдегиддегидрогеназа – это суперсемейство генов, кодирующих белки, которые катализируют превращение субстратов альдегида в карбоксилаты через NAD⁺ [126]. Геном *ALDH1*, лоцируется на

длинном плече хромосомы 9 в области 9кв21.13, кодирует цитозольную форму энзима. *ALDH2*, находящийся в длинном плече хромосомы 12 в регионе 12кв24.12, кодирует митохондриальную форму и имеет важное значение, так как по этому пути метаболизируется значительное количество ацетальдегида [125, 195]. *ALDH2* – это митохондриальный фермент массой 54 кДа с тетрамерной структурой, который катализирует окисление более 90% ацетальдегида, образующегося при окислении этанола при детоксикации печени [172].

Были описаны два полиморфизма гена *ALDH2*: *ALDH2*1* и *ALDH2*2*. Первый вариант очень активен, тогда как *ALDH2*2* характеризуется заменой Glu→Lys в аминокислоте 487, а эта мутация ассоциирована с низкой ферментной активностью, ведущей к снижению эффективности окисления ацетальдегида и приводящей к накоплению данного метаболита [96]. Эти изменения индуцируют различные токсические эффекты в печени, включая нарушение структуры протеинов в гепатоцитах путем связывания метаболита с аминокислотной группой белков [84, 228]. Среди различных изоферментов *ALDH* только цитозольный *ALDH1* и митохондриальный *ALDH2* могут метаболизировать ацетальдегид [37].

У кавказской (белой) популяции есть два изофермента: *ALDH1* и *ALDH2*. В популяциях белой расы не отмечаются мутации гена *ALDH2*, ведущей к снижению способности к метаболизму ацетальдегида. В Японии около 50% популяции активность изофермента *ALDH2* снижена из-за мутации G/C→A/T в экзоне 12, приводящей к замене аминокислоты в позиции 14 клеммы COOH. Данный полиморфизм вызывает образование дефектного белка в каталитическом центре и, метаболическая активность фермента снижается [227]. *ALDH2* ген, кодирующий ключевой фермент для выведения ацетальдегида, имеет полиморфизм (Glu487Lys), который существует у 30-50% жителей Восточной Азии, но не часто встречается у представителей белой или черной расы [88].

Полиморфизм (Glu487Lys) (а именно аллель *ALDH2*2*) вызывает каталитическую инактивацию *ALDH2*, что впоследствии приводит к чрезмерному накоплению ацетальдегида и усилению повреждения ДНК [71]. Клинические исследования показывают, что у гомозиготных по *ALDH2*2* людей, употребляющих алкоголь, повышен риск развития злокачественных опухолей верхних отделов желудочно-кишечного тракта (в 7–12 раз выше), особенно рака пищевода [104]. Однако при алкогольном гепатоцеллюлярном раке точный вклад полиморфизма *ALDH2* в онкогенез до сих пор плохо изучен. Два исследования, проведенные среди японцев, показали, что у людей с комбинацией *ALDH2*1/*2* и *ADH2*2/*2* риск развития ГЦР выше, чем у людей с *ALDH2*1/*1* [47, 136]. Лица с аллелем *ALDH2*2* вырабатывают высокие уровни ацетальдегида после употребления алкоголя. Это позволяет предположить, что полиморфизм *ALDH2* может служить независимым фактором риска развития ГЦР. Однако метаанализ не выявил значимой связи между вариантами *ALDH2* или взаимодействием вариантов *ALDH2* с употреблением алкоголя и риском развития ГЦР у жителей Восточной Азии [111].

Цитохром P450 (*CYP2E1*). Основная функция семейства *CYP450* заключается в метаболизме различных ксенобиотических веществ, поступающих в организм. К ним относятся лекарства, наркотические средства и алкоголь. Существует 44 подсемейства, из которых подсемейство ПЕ является наиболее важным в метаболизме алкоголя. Подсемейство ПЕ *CYP2E1* кодируется геном, расположенным на хромосоме 10 в области 10q26.3. Ген *CYP2E1* кодирует фермент массой 56,9 кДа, который способен метаболизировать лекарственные препараты, гормоны и ксенобиотические токсины, такие как этанол. Фермент выполняет окислительно-восстановительную функцию и локализован в мембране эндоплазматического ретикулума [74, 99, 127].

Индукция транскрипции происходит при высоком уровне этанола, поэтому в условиях хронического злоупотребления спиртными напитками

возникает повышение скорости транскрипции. *CYP2E1* является участником микросомальной системы окисления этанола, в результате которой этанола распадается до ацетальдегида. В процессе этой реакции образуются (активные формы кислорода) АФК [146].

Между уровнем экспрессии *CYP450* и количеством аддуктов ДНК, которые образуются в результате связывания ацетальдегида и модифицированных оснований, имеется взаимосвязь. Это приводит к индуцированию мутаций в ДНК, благоприятствуя активации онкогенов, инициируя снижение активности генов-супрессоров опухолей, видоизменяя иммунный ответ, снижая узнавание иммунными клетками протеинов, связанных с инородными структурами [29, 99].

Одной из полиморфизмов *CYP2E1* является мутация *CYP2E1*5B*, которая возникает из-за нарушений последовательности в регуляторном регионе 5' гена С-1053Т. Вследствие случившихся изменений возникает повышение скорости транскрипции и активности ферментов, приводящие к повышению вероятности развития риска патологии печени на фоне злоупотребления алкоголем [200].

Каталаза. Ген, кодирующий каталазу, расположен на 11-й хромосоме в области 11p13 [72]. Каталаза представляет собой олигомерный белок с четырьмя субъединицами по 60 кДа [195]. Каталазная система находится в пероксисомах. Его основная функция заключается в регулировании уровня перекиси водорода и перекисного окисления этанола до ацетальдегида в присутствии H_2O_2 [142]. Каталаза играет важную роль в окислении этанола в головном мозге.

Каталаза имеет несколько изоформ. Для типа I каталазы характерна замена G→A в положении 5 интрона 4, типу II присуща делеция в позиции 358 Т 4-го экзона, а вставка в локации 138GA экзона 2 ведет к возникновению типа III [83]. С этими полиморфизмами ассоциировано снижение каталитической активности каталазы, приводит к уменьшению уровня перекиси водорода менее 10% из-за снижения метаболизма. Это вызывает состояние, называемое

акаталаземией, которое является аутосомно-рецессивным синдромом, при котором активность каталазы в эритроцитах снижается [117].

1.2.2. Полиморфизмы генов алкоголь-метаболизирующих ферментов и предрасположенность к развитию прогрессирующего заболевания печени

Еще в 1965 году Von Wartburg J.P. с соавторами сообщили, что у некоторых людей имеется атипичная форма фермента алкогольдегидрогеназы [226], а далее Greenfield N.J. и Pietruszko R. сообщили о двух изоферментах ALDH, которые обладали различной метаболической активностью [118].

Усиление расщепления этанола до ацетальдегида и дальнейшее снижение функции окисления ацетальдегида до уксусной кислоты является следствием возникших вариаций в генах *ADH* и в генах *ALDH2* [25]. Это может привести к накоплению ацетальдегида, который является известным мутагеном и канцерогеном, вызывающим повреждение ДНК и способствующим развитию плоскоклеточного рака пищевода [16]. Генетический полиморфизм в *ADH1B* и *ADH1C* генов связан с различными уровнями активности ферментов [28]. Кроме того, аллели *ADH* и *ALDH2* могут влиять на индивидуальные привычки употребления алкоголя и риск развития алкоголизма [150].

В разных популяциях варианты гена *ADH1B* встречаются с разной частотой. Например, в кавказском (европеоидном) и чернокожем населении преобладает аллель *1, тогда как у китайцев, японцев и некоторых людей еврейского происхождения частота аллеля *ADH1B* *2 выше. В случае европейских популяций, *ADH1C**1 и *ADH1C* *2 встречаются с одинаковой частотой [102]. Люди еврейского происхождения, несущие *ADH1B* *2 аллель, демонстрируют лишь незначительно (<15%) более высокие показатели элиминации алкоголя по сравнению с лицами с *ADH1B**1. Кроме того, афроамериканцы [217] и коренные американцы с *ADH1B**3 аллелем метаболизируют алкоголь быстрее, чем лица, имеющие аллели с *ADH1B**1 [37].

Сравнительный анализ пациентов белой расы с алкогольным ЦП, неалкогольным циррозом печени, постоянно злоупотребляющих спиртными напитками без патологии печени и умеренно потребляющих алкоголь без формирования патологии печени показал, что активность фермента ADH была ниже у больных с алкогольным циррозом. Фермент также уменьшал свою активность у пациентов с циррозом печени с присутствием мутаций *ALDH1B1* относительно лиц с ЦП с полиморфизмом *ADH1B2*. Кроме того, постоянно употребляющим спиртное пациентам свойственно снижение активности ALDH, что может являться доказательством связи различных уровней метаболической эффективности с нарушением экспрессии генов [177].

Аллельные варианты *ALDH2*1* и *ALDH2*2* – результат генетического полиморфизма. Вариант *ALDH2*2* обладает низкой активностью фермента. После употребления алкоголя уровень ацетальдегида высок у людей с гетерозиготным или гомозиготным состоянием по *ALDH2*2* аллелю и, следовательно, испытывают негативные физиологические реакции на алкоголь [37, 150].

Хорошо известна «реакция восточного прилива», встречающаяся у японцев, обусловленная мутацией гена *ALDH*, кодирующей неактивную форму фермента. При этой мутации развивается клиническая картина, связанная с головными болями, тошнотой и головокружением, что приводит пациентов к необходимости полного прекращения приема алкоголя или сокращения его количеств [147]. На сегодняшний день не пришли к окончательному мнению по результатам имеющихся данных о повышенной активности ADH (*ADH1*B2*) и фермента (*ADH1*B2*) одновременно со снижением активности фермента ALDH (*ALDH2*2*). Это приводит к повышенному образованию ацетальдегида, снижению эффективности окисления, ведет к повреждению клеточной ткани, что также было подтверждено *in vitro* [58].

Доказано, что полиморфизм генов *CYP1A1* и *CYP2E1* представляют собой факторы, модифицирующие риск заболеваний, связанных с этанолом у бразильских жителей, злоупотребляющих алкоголем, и у контрольной группы

со схожим этническим происхождением. Также было показано, что лица с мутантными генотипами генетически более склонны к развитию алкогольного панкреатита и алкогольного цирроза печени соответственно [54, 82, 103, 178].

Кроме того, было высказано предположение, что риск развития цирроза печени может быть связан с взаимодействиями между генами, кодирующими метаболические ферменты. Другими словами, комбинация *ALDH2*2* с медленным метаболизмом, гена *ALDH* с низкой метаболической активностью и экспрессия вариантов *ADH1B*2* и *CYP2E1*5B*, приводящая к усиленной продукции ацетальдегида, может быть причастна к повреждению клеток [121]. В отличие от этих результатов, другое исследование выявило повышенную частоту варианта *ALDH2*1* у пациентов с циррозом печени алкогольной этиологии [31].

Распространенный полиморфизм в промоторной области гена каталазы с.-262C>T (rs1001179) влияет на предрасположенность к алкогольной зависимости и ее тяжесть [112]. Было обнаружено, что уровни каталазы были значительно выше у субъектов, несущих аллель CAT -262 T [51]. Имеются литературные данные, показывающие, что активность каталазы и потребление алкоголя взаимосвязаны, но влияние этого полиморфизма на алкогольную зависимость необходимо исследовать для правильных выводов [150].

Имеются доказательства того, что ассоциации полиморфизмов в генах, кодирующих ферменты, которые метаболизируют алкоголь, включая *ADH1B*2*, *ADH1C*1*, *ALDH2*2* и *CYP2E1*5*, повышают восприимчивость к развитию заболеваний печени за счет накопления ацетальдегида в организме [150]. При этом имеется необходимость в дополнительном изучении токсичности алкоголя в организме, учитывая генотипы ферментов, которые метаболизируют этанол и которые способствуют прогнозированию способности человека выводить этанол из организма.

1.3. Механизмы развития повреждения печени воздействием алкоголя

Ацетальдегид является метаболитом алкоголя, при накоплении которого образуются аддукты ДНК – участки без пурина или пиримидина, способные вызывать повреждение печени. Микросомальный путь метаболизма алкоголя с участием фермента CYP2E1 индуцирует продукцию активных форм кислорода (перекись водорода, супероксидные и гидроксильные радикалы), играющие важную роль в повреждении ДНК и в окислении свободных жирных кислот (СЖК).

Токсическое воздействие на печень оказывает ацетальдегид, при этом повреждаются митохондрии, нарушаются клеточные мембраны, изменяется ДНК. Ацетальдегид способен снижать утилизацию кислорода, так как угнетает активности ферментов, расщепляющих активные формы кислорода, таких как глутатион-S-трансфераза, приводя к гибели клеток [21]. При злоупотреблении алкоголем в результате токсического влияния ацетальдегида активируется перекисное окисление липидов (ПОЛ), формируется стеатоз печени вследствие накопления жира в вакуолях разного размера в цитоплазме гепатоцитов. В свою очередь, макровакуоли могут вытеснять ядро на периферию клетки. Воспаление, индуцированное инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами, может усугубить стеатоз, приводя к следующей стадии, именуемой стеатогепатитом [21, 190]. При стеатозе печени нарушается структура паренхимы. Изменения представляют собой скопления СЖК, расположенных в центральных областях дольки. Они выглядят как жировые капли, а вместе с ними находятся клеточные инфильтраты. Возрастают также процессы превращения ацетил-КоА в жирные кислоты и усиливается липогенез [21, 170, 173].

Алкогольный гепатит является еще одним проявлением АБП, которая характеризуется некрозом гепатоцитов, инфильтрацией области некрозов полиморфноядерными лейкоцитами и дегенерацией печеночных клеток центральной зоны долек [173]. Гибель гепатоцитов, вызванная потреблением

этанол, может спровоцировать фиброз печени и вызвать фиброзную регенерацию с накоплением коллагена I типа. Это происходит из-за повышенного синтеза коллагена I типа звездчатыми клетками (ЗК) печени и повышенной выработки белка внеклеточного матрикса, называемого остеопонтином. ЗК могут активироваться гепатоцитами при повреждении клеток, и одновременно может усиливаться синтез ингибиторов коллагеназы, а также происходит активация клеток Купфера и нейтрофилов. Далее развивается хроническое повреждение печени в результате усиленной выработки ростовых факторов, цитокинов, хемокинов и свободных радикалов, которые реактивируют ЗК и усиливают их действие, приводя к более серьезным осложнениям со стороны печени, прогрессированию фиброза. Эти процессы ассоциированы с нарушением архитектоники печеночной паренхимы и формированием цирроза печени [107, 170].

Дополнительные риски развития прогрессирующей алкогольной болезни печени. У пациентов, имеющих сопутствующие другие (фоновые) заболевания печени ежедневное употребление алкоголя повышает риск прогрессирования патологии печени.

Одновременное употребление табака и алкоголя увеличивает риск развития ГЦР, что было продемонстрировано во многих масштабных эпидемиологических исследованиях [184, 218]. В то же время, в экспериментальных исследованиях на животных было показано, что целый ряд токсинов (нитрозамины, ароматические углеводороды и некоторые алкалоиды, содержащиеся в сигаретном дыме), индуцируют системное воспаление, окислительный стресс, гипоксию тканей и образование свободных радикалов, что может вызывать формирование фиброза печени. Дальнейшие исследования на животных показали, что никотин независимо способствует развитию фиброза печени [164].

Ожирение и метаболический синдром (МС) повышают риск прогрессирующего заболевания печени у сильно пьющих людей [93, 137]. При индексе массы тела >30 кг/м² у пациентов, употребляющих более 3 единиц

алкоголя в день, значительно возрастает риск заболеваний печени, сопровождающихся повышением уровня трансаминаз, развитие стеатоза, фиброза, цирроз печени и ГЦР [169]. Более того, наличие ожирения у алкоголиков связано с повышенной вероятностью развития ЦП [93, 169]. Установлено, что у лиц, злоупотребляющих алкоголем, страдающих ожирением или избыточным весом риск любого заболевания печени был в 1,5 раза выше, а риск смерти повышался в 2,2 раза сравнительно с лицами с нормальной массой тела [140]. Первоначально крупные эпидемиологические исследования предполагали, что умеренное употребление алкоголя может защитить от метаболически-ассоциированной жировой болезни печени (МАЗБП) [199], но более поздние исследования с использованием индивидуальных данных выявили, что даже умеренное употребление алкоголя может способствовать развитию заболеваний печени у людей с ожирением и МС [17, 151].

Имеются мнения, что при переедании и одновременном избыточном употреблении алкоголя повышенный уровень этанола в крови способствует бактериальной транслокации [23] и развитию фиброза печени [65]. При этом точная роль избыточного питания при алкоголизме как фактора риска ЦП недостаточно ясна [129]. Вполне вероятно, что интенсивное употребление алкоголя, ассоциированное с перееданиями, и оказывают аддитивный эффект и увеличивает риск развития ЦП [35, 225].

Сахарный диабет также усугубляет развитие заболеваний печени у пьющих людей. Было показано, что наличие сахарного диабета (СД) на фоне интенсивного употребления алкоголя было связано с 6-кратным повышением риска госпитализации, смертности и развития ГЦР, связанного с заболеваниями печени [41]. Важно отметить, что, хотя бариатрическая хирургия может снизить клинические проявления или даже вызвать обратное развитие МАЗБП, она может быть фактором риска развития алкогольной зависимости и последующей АБП [61, 62]. Желудочное шунтирование связано с 2-3-кратным повышением риска развития алкогольного гепатита [201].

Употребление алкоголя является частым кофактором у лиц с вирусным гепатитом С, а независимым фактором риска прогрессирования фиброза печени у этих пациентов является ежедневное употребление алкоголя в больших дозах (> 50 г) [22]. В мета-анализе 33 исследований с участием 21919 участников с гепатитом С было выявлено дозозависимое токсическое воздействие алкоголя на печень. Было продемонстрировано, что каждый ежедневный прием алкоголя увеличивает риск развития цирроза, декомпенсации функции печени и смертности на 11,2% [131]. Более того, у лиц с хроническим гепатитом С, которые выпивали более 6 стандартных доз напитков в день, риск развития ГЦР был более чем в 50 раз выше, чем у тех, кто не употреблял алкоголь [193].

В когортном исследовании было показано, что у пациентов, госпитализированных с употреблением более 3 порций алкоголя в день на фоне других хроническими заболеваниями печени риск развития ЦП был выше. Так у HBsAg-позитивных пациентов вероятность развития цирроза была выше в 2 раза по сравнению с пациентами без HBV-инфекции [138]. Анализ наблюдения за 1515 пациентами с HBV-инфекцией в течение 10 лет выявил, что у больных с ЦП в исходе гепатита на фоне хронического употребления алкоголя более 80 г ежедневно в течение более 5 лет частота возникновения ГЦР была выше по сравнению с пациентами с HBV-циррозом без злоупотребления алкоголем [57].

1.4. Механизмы фиброгенеза при алкогольной болезни печени

1.4.1. Структура соединительной ткани печени

Внеклеточный матрикс (ВКМ) является неотъемлемым компонентом всех тканей и органов, структура каркаса его состоит из двух основных классов макромолекул, протеогликанов и волокнистых белков, вокруг которых ориентированы клетки. При воспалительных и профиброгенных стимулах циркуляция ВКМ не сбалансирована и приводит к качественным и количественным изменениям матрикса и, следовательно, к изменениям состава

и количества коллагенов и развитию фиброза. Этот дисбаланс в ремоделировании ВКМ способствует высвобождению специфичных циркулирующих веществ, которые впоследствии могут быть использованы в качестве количественных биомаркеров [168, 206].

ВКМ можно разделить на две основные категории: интерстициальный матрикс и базальную мембрану [67]. Интерстициальный матрикс представляет собой преобладающую часть ВКМ, он окружает клетки и, в основном, состоит из фибриллярных коллагенов I, III и V типов, фибронектина и протеогликанов [213]. Фибробласты преимущественно ответственны за выработку интерстициального ВКМ, в частности коллагенов I, III, V и VI типов [168]. Базальная мембрана представляет собой более рыхлую структуру с большими функциональными и композиционными вариациями, обеспечивающими как «листовидный» каркас для прикрепления эпителиальных и эндотелиальных клеток, так и быструю диффузию определенных небольших молекул. Базальная мембрана состоит из коллагена IV типа, образующего сеть, ламининов, специфических протеогликанов, содержащих в основном гепарансульфат, и коллагенов, не образующих каркас, таких как типы XV, XVIII и XIX. Кроме того, базальная мембрана является важным резервуаром ангиогенных факторов роста и ферментов и контролирует биологические процессы, такие как упорядоченная миграция клеток и адгезия, заживление ран и регенерация тканей. Наиболее распространенной молекулой и важным фактором стабильности является коллаген IV типа, сетевой коллаген, вырабатываемый эпителиальными / эндотелиальными клетками, сильно отличающийся от фибриллярных коллагенов, вырабатываемых фибробластами [168, 206].

Семейство коллагенов представляет собой разнообразную группу белков, состоящую из 28 различных типов коллагенов, кодируемых более чем 42 различными генами [192]. Все коллагены имеют общую высокостабильную и характерную структуру тройной спирали, состоящую из трех составляющих цепей, которые имеют повторяющуюся последовательность основных аминокислот (глицин-пролин-гидроксипролин) и, в зависимости от типа

коллагена, частые аминокислотные замены. Однако, за исключением коллагенов, образующих фибриллы, большинство других коллагенов имеют частые нарушения в области тройной спирали (Gly-Pro-Hyp), что позволяет им формировать более гибкие структуры (например, сетчатую (тип IV и другие) или цепочечную микрофибрилярную супрамолекулярную организацию (тип VI и другие) [192, 213]. Соответственно, коллагены могут быть подразделяются на шесть различных классов: фибриллярные коллагены, образующие сеть коллагены, связанные с фибриллами коллагены с прерывистыми тройными спиралями, трансмембранные коллагены, мультиплексины и коллагены, которые не попадают в эти категории [192]. Функция коллагена зависит от его супрамолекулярной организации и составляющих его цепей.

В здоровой нормальной печени большинство коллагенов относятся к фибриллярным типам I, III и V. Фибриллярные коллагены в основном локализованы в интерстициальном матриксе, вырабатываются (мио-) фибробластами и поддерживают структуру ткани. По мере развития фиброза коллагены изменяются как в их количестве. Коллаген базальной мембраны IV типа также в значительной степени присутствует в здоровой печени и обеспечивает диффузию молекул между кровью и эндотелием и эпителием печени. Коллагеновая сеть IV типа в основном вырабатывается эндотелием и ЗК печени в состоянии покоя [59]. Вместе с нефибриллярными белками, такими как ламинины и энтактин / нидоген, коллаген IV типа образует матрикс, подобный базальной мембране низкой плотности, вдоль синусоидов, а также вокруг желчных протоков и сосудов портального тракта. Это помогает поддерживать дифференцированные и поляризованные функции прикрепленных к нему клеток [64, 206]. Другие коллагены базальной мембраны имеют более избирательную локализацию, например, перисинусоидальный коллаген XVIII типа, который в основном вырабатывается гепатоцитами, или коллаген XV типа, который расположен в портальном тракте [78,105]. Фибриллярные коллагены в основном расположены в строме портального

тракта и, в незначительных количествах, в перисинусоидальном пространстве и становятся важным компонентом расширяющегося фиброзных септ.

1.4.2. Механизмы развития фиброза печени

Фиброз печени представляет собой динамический процесс, характеризующийся накоплением внеклеточного матрикса в результате хронического повреждения печени любой этиологии, включая вирусную инфекцию, АБП и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). Активация ЗК печени – трансдифференцировка покоящихся клеток, запасавших витамин А, в пролиферативные фиброгенные миофибробласты – в настоящее время хорошо известна как центральная движущая сила фиброза как при экспериментальном повреждении печени, так и у человека. ЗК являются основными клетками, реализующими фиброгенез [158]. ЗК трансформируются в миофибробласты под воздействием провоспалительных интерлейкинов, хемокинов, профиброгенных молекул и факторов роста – TGF- β , PDGF (тромбоцитарный фактор роста). Эти стимуляторы продуцируются купферовскими, эндотелиальными, эпителиальными и иммунными клетками, а также тромбоцитами. Свободные радикалы, липидные медиаторы, простагландины, метаболиты этанола тоже способны оказывать стимулирующее влияние на ЗК [89, 158, 219].

В активацию ЗК вносят свой вклад также аутофагия, стресс эндоплазматического ретикулума, окислительный стресс, метаболизм ретинола и холестерина, эпигенетика и сигналы, опосредованные рецепторами. Внеклеточные сигналы от резидентных и воспалительных клеток, включая макрофаги, гепатоциты, синусоидальные эндотелиальные клетки печени, естественные клетки-киллеры, натуральные клетки-киллеры Т-клетки, тромбоциты и В-клетки, дополнительно модулируют активацию ЗК. Пути клиренса ЗК включают апоптоз, старение и возврат в инактивированное состояние. В совокупности эти данные подтверждают удивительную сложность

и пластичность активации ЗК и подчеркивают ценность выяснения ее регуляции в надежде на продвижение разработки новых методов диагностики и лечения заболеваний печени [158, 221].

Фиброгенный процесс представляет собой неадаптивную реакцию заживления ран на общее повреждение печени, характеризующееся избыточной продукцией и накоплением коллагена и других протеиновых компонентов ВКМ активизированными ЗК печени и фибробластами портальных трактов [107, 203]. В ситуации дисбаланса между продукцией и распадом ВКМ происходит прогрессирование фиброза [167]. При АБП фиброз начинается в перивенулярных областях и распространяется на портальные тракты, приводя к формированию центрально-портального или портально-портального мостовидного фиброза. Если прием алкоголя продолжается, то фиброз и регенерация гепатоцитов приводят к образованию узелков и, в конечном итоге, к циррозу [203]. Фиброз печени является существенным фактором риска развития и прогрессирования рака печени, который включает ГЦР и холангиокарциному [101].

Восстановление поврежденной зоны печени осуществляется за счет процесса фиброза, являющегося механизмом, поддерживающим синтез факторов роста и цитокинов, репарацию клеток [9, 116]. Фиброзирование печени представляет собой обратимый процесс из-за ее уникальной регенеративной способности. Регрессия фиброза печени возможна после исчезновения повреждающего фактора. К отсутствию регрессии и фатальным последствиям может привести прогрессирующий фиброгенез. Ситуация, возникающая при чрезмерном накоплении ВКМ, приводит к значительным нарушениям архитектоники с возникновением «точки невозврата», с развитием портальной гипертензии. Вероятность регрессии фиброза на этой стадии невелика [196].

1.4.3. Возможности неинвазивной оценки фиброза печени

В настоящее время гистологическое исследование биоптатов печени при АБП рекомендовано только при сомнении в диагнозе и необходимости исключения других / сопутствующих заболеваний печени. Также следует учитывать наличие противопоказаний у биопсии [5, 6, 7, 22]. В свете этих рекомендаций важную значимость имеют неинвазивные методы диагностики фиброза.

Существует целый ряд различных как сывороточных, так и инструментальных маркеров для неинвазивной оценки фиброза печени. Сывороточные биомаркеры разделяют на косвенные (класс II) и прямые (класс I) маркеры [167]. Прямые тесты, характеризующие уровень фиброза, классифицируются как сывороточные биомаркеры I класса. Сюда относятся продукты метаболизма, образующиеся в результате деградации ВКМ в ходе процесса фиброгенеза. Во время этого процесса наблюдается последовательное повышение сывороточных уровней фиброгенных цитокинов (например, фактора роста опухоли β), компонентов внеклеточного матрикса, например, гиалуроновой кислоты, продуктов распада (например, проколлаген пептида IV C) и ферментов, участвующих в этих процессах (например, тканевого ингибитора металлопротеиназ TIMP-1) [75].

Непрямые тесты фиброза представлены сывороточными биомаркерами II класса. Это серологические тесты, построены на измерениях общих измененных параметров печени – трансаминазы, количество тромбоцитов или альбумин. Биомаркеры II класса в большей степени отражают функцию печени или воспаление, чем представляют собой суррогатные маркеры метаболизма ВКМ или фиброгенный процесса в печени. Эти параметры оценивают в баллах и объединяют в балльные системы или панели. Также в системы включают демографические характеристики (наличие диабета или возраст), что позволяет точнее классифицировать стадии фиброза [75, 166]. Такие панели имеют высокий и низкий порог для диагностики конкретной стадии фиброза, что

позволяет минимизировать количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Однако часть пациентов попадает в «неопределенную зону» (или «серую зону») между двумя пороговыми значениями. В таких случаях необходимы дополнительные исследования для классификации фиброза у этих пациентов.

Развитие передовых методов визуализации привело к появлению дополнительных инструментов для определения стадии фиброза печени. Преимуществами этих новых методов являются широкая доступность, неинвазивность и высокая воспроизводимость. Поэтому, когда они подтверждены как достаточно точные, они представляют собой идеальный инструмент для стратификации риска, определения стадии фиброза и долгосрочного наблюдения за пациентами.

Биомаркеры фиброза печени могут либо непосредственно отражать оборот внеклеточного матрикса и активность основных клеток, продуцирующих ВКМ, либо они могут быть косвенными показателями механизмов или клеток, которые влияют на аспекты биологии матрикса и являются ранним сигналом развития осложнений цирроза [168]. У большинства пациентов развитие фиброза в печени неоднородно, и скорость прогрессирования / регресса заболевания может варьироваться, особенно при МАЖБП [168, 206]. Вариабельность прогрессирования заболевания представляет особую проблему для разработки надежных биомаркеров. Это также требует персонализированных стратегий лечения, формирование которых будет возможно только путем разработки жидких неинвазивных биомаркеров, которые лучше прогнозируют клиническое течение [206].

Основным компонентом фиброзной ткани, формирующейся в результате прогрессирования хронических заболеваний печени, являются коллагены. Сывороточные биомаркеры, непосредственно отражающие состояние компонентов фиброзной ткани, предпочтительнее относительно использования непрямых биомаркеров и показателей (например, АлАТ, АсАТ и FIB-4), так как именно они более информативно отражают динамику процессов фиброза. При

различной этиологии патологии печени наблюдали корреляцию между биомаркерами, характеризующими коллагены и пропептиды коллагенов, и выраженностью фиброза печени, что представляется важной перспективой для неинвазивной диагностики фиброза [24, 155].

Представителями сывороточных маркеров фиброза печени являются гиалуриновая кислота (ГК), ламинин, проколлаген III типа и коллаген IV типа. В клинических исследованиях все эти четыре маркера фиброза печени демонстрируют выраженную связь с фиброзом печени [221].

В настоящее время наиболее валидированными и точными биомаркерами для измерения образования коллагена III типа являются N-концевой пропептид PIIINP и биомаркеры PRO-C3 [13, 215].

В процессе метаболизма ВКМ в кровоток попадают мелкие или более крупные фрагменты ВКМ, после чего они могут быть использованы в качестве биомаркеров фиброгенеза или фибролиза, в зависимости от природы фрагментам [67]. Интерстициальный ВКМ при фиброзе формируют фибриллообразующие коллагены I и III типов и небольшое количество коллагена типа V. Именно коллагены I и III типов являются структурными, тогда как коллаген типа V определяет размер фибрилл [185]. Существуют предшественники коллагенов, которые состоят из большой центральной области с тройной спиралью, с N- и C-концевыми пропептидами, ковалентно связанными с каждым концом. Высвобождение пропептидов происходит в процессе встраивания молекулы коллагена тройной спирали в растущую коллагеновую фибриллу [192]. Иногда расщепление пропептидов является неполным, и поэтому пропептиды остаются прикрепленными. Следовательно, неправильно обработанный коллаген высвобождается в кровоток. Схематическая структура коллагена III типа (pro) изображена на рисунке 1. Пропептиды высвобождаются с помощью специфических ферментов [124]. Таким образом, пептидные последовательности (неоэпитопы), сгенерированные de novo в местах расщепления, могут быть использованы в качестве суррогатных биомаркеров фиброгенеза. Доступно 16 других типов

пептидных неоэпитопов, связанных с коллагеном, которые в основном являются биомаркерами, связанными с деградацией. Они образуются из фрагментов, высвобождающихся из спиральной центральной части молекул, которые образуются только при разрушении молекулы коллагена, например, во время фибролиза [157, 159, 160] или ремоделирования ткани вследствие локального воспаления. Из коллагена III типа высвобождается много различных пептидов, которые происходят из проколлагена III, и их можно измерить в сыворотке крови. Некоторые из них связаны с образованием коллагена, в то время как другие являются пептидами, связанными с деградацией. Это разнообразие пептидов необходимо для биологии, функционирования и передачи сигналов коллагена и может быть основой для оптимальной разработки биомаркеров [168].

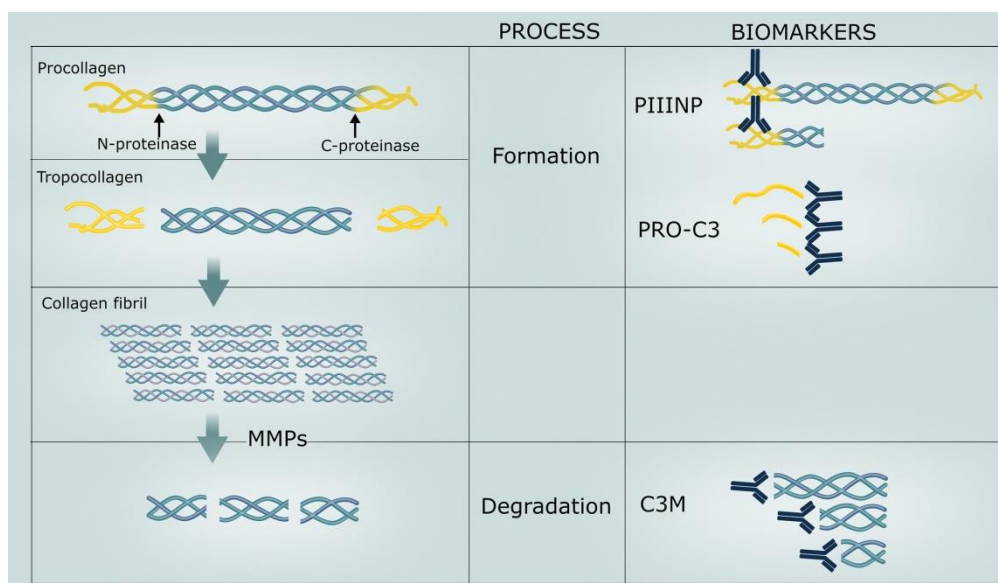


Рисунок 1 – Синтез и распад коллагена III типа (по Karsdal M.A. et al., 2015) [168].

Как PRO-C3, так и PIIIINP количественно определяют образование коллагена III типа. Между количеством коллагена III типа, экспрессируемого в мягких тканях и числом (мио-) фибробластов в фиброзной ткани существует корреляция [162]. Большая точность оценки интенсивности фиброза принадлежит именно коллагену III типа и другим минорным коллагенам. Хорошо известно, что коллаген I типа преобладает в костной ткани, поэтому

именно коллагеновые пептиды III типа (pro) являются предпочтительными прогностическими биомаркерами фиброза печени [175, 185]. PIII^{NP} считается одним из оптимальных маркеров образования коллагена III типа. В процессе фиброгенеза в печени возрастает метаболизм ВКМ и, следовательно, увеличивается содержание продуктов метаболизма коллагена.

Было показано, что маркеры фиброза печени в сыворотке крови положительно коррелировали с показателями АлАТ, АсАТ, билирубина, протромбина, данными эластометрии печени, индексами APRI, FIB-4 и тяжестью ЦП по Чайлд–Пью и отрицательно коррелировали с альбумином и количеством тромбоцитов. Длина и диаметр селезенки положительно коррелировали с ГК, PIII^{NP} и коллагеном IV типа. Кроме того, ГК, ламинин, PIII^{NP} и коллаген IV типа положительно коррелировали с ранним развитием варикозно расширенных вен желудка и пищевода [80].

Было продемонстрировано на примере пациентов с хронической HCV-инфекцией, что сывороточные маркеры фиброза печени имеют высокую прогностическую ценность для диагностики тяжести фиброза и прогнозирования течения заболевания при хронической патологии печени [208]. У больных хроническими гепатитами, вызванными HBV и HDV инфекциями, имелась взаимосвязь между показателями PIII^{NP}, коллагена IV типа, ламинина и ГК с параметрами фиброза [207]. Кроме того, обнаружено, что коллаген IV типа и ламинин в сочетании с показателем соотношения АсАТ к тромбоцитам и альбумином могут быть предикторами определения очень низкого риска тяжелого фиброза у пациентов с хронической HCV-инфекцией [87]. В то же время в другом исследовании у больных алкогольным ЦП корреляционный анализ показал, что уровни коллагена IV типа, ламинина, ГК, но не PIII^{NP}, достоверно связаны с тяжестью цирроза по шкалам Чайлд–Пью и шкалой Model for End-Stage Liver Disease (MELD) [209]. Теоретически, степень фиброза печени положительно связана с тяжестью дисфункции печени, тем самым влияя на условия выживания. Однако остается неясным, могут ли

маркеры фиброза печени в сыворотке крови предсказывать прогноз пациентов с циррозом печени.

В российском исследовании при всех формах АБП содержание коллагенов III и IV типов превышало соответствующие показатели здоровых лиц. При этом содержание Col-IV возрастало примерно в 8 раз при прогрессировании заболевания от стеатоза печени до ЦП, тогда как уровень Col-III увеличивался лишь в 3 раза, что характеризовало большую диагностическую ценность коллагена IV типа [8].

Уровень PIIINP имеет диагностическую ценность не только при хронических заболеваниях печени. Есть данные, что уровень сывороточного PIIINP временно повышался при развитии острой сердечной недостаточности. Это отражало нарушение функции печени при недостаточности кровообращения, служило комплексным биомаркером дисфункции печени при перегрузке объемом и могло предсказывать неблагоприятные исходы у пациентов с острой декомпенсированной сердечной недостаточностью [222].

N-концевой пептид проколлагена III типа высвобождается во время синтеза коллагена в мышцах. Повышенный уровень циркулирующего PIIINP является маркером не только мышечного роста, но также восстановления мышц и фиброза. Таким образом, PIIINP может быть еще и потенциальным биомаркером саркопении [186].

1.5. Клинические варианты и лечение алкогольной болезни печени

1.5.1. Особенности клинических проявлений патологии печени при злоупотреблении алкоголем

Чрезмерное употребление алкоголя приводит к развитию АБП с целым рядом патогистологических изменений. Спектр заболеваний варьирует от связанного с алкоголем стеатоза, алкогольного гепатита, прогрессирующего фиброза и цирроза печени [5, 6, 7, 97, 143].

Примерно у 90% злоупотребляющих алкоголем наблюдается гепатоцеллюлярный стеатоз. Вопрос о том, является ли алкогольный стеатоз доброкачественным заболеванием или может прогрессировать, остаётся спорным. Некоторые исследования показывают, что у 10% пациентов с гистологическим стеатозом без АГ или фиброза цирроз может развиваться в среднем через 10,5 лет [63, 91].

В настоящее время принято выделять два варианта АГ, учитывая тяжесть повреждения печени и жизненный прогноз: стеатогепатит и тяжелый алкогольный гепатит. Для тяжелого АГ, называемого также алкогольным гепатитом тяжелого течения, характерно начало заболевания с быстрым прогрессированием печеночной недостаточности, развитием желтухи, асцита, геморрагическим синдромом. Этому клиническому варианту АБП свойственна высокая краткосрочная летальность (30–50%) [5, 6, 7, 22].

В США на АГ приходится примерно 4 из каждых 100000 госпитализаций. АГ наблюдается примерно у 17% всех госпитализированных пациентов с острой печеночной недостаточностью, связанной с АБП [4, 135]. В ретроспективном датском исследовании общая частота АГ составила 36,6 случая на миллион [133].

АГ может возникать как первое проявление ранее клинически скрытого заболевания печени или как обострение уже существовавшего хронического прогрессирующего заболевания печени. Развитие у пациента АГ может приводить к заметному снижению синтетической функции печени, усугублению осложнений, вызванных портальной гипертензией, и часто вызывать острую декомпенсацию печеночной функции или трансформацию острой печеночной недостаточности в хроническую [153, 154, 181].

Было установлено, что именно прогрессирующий фиброз, а не клинические или биохимические факторы, является единственным независимым предиктором долгосрочного исхода у пациентов с компенсированной АБП [122].

Алкогольный цирроз печени диагностируется при наличии подтверждённого факта регулярного употребления алкоголя в количестве более 20 г в день у женщин и более 30 г в день у мужчин, а также при имеющихся клинических и/или лабораторных отклонений, указывающих на повреждение печени [91]. Пациенты без клинических симптомов или лабораторных отклонений, употребляющие критическое количество алкоголя, могут иметь гистологические признаки алкогольного цирроза печени. Этим лицам следует пройти соответствующие скрининговые исследования [35].

Возможности развития ГЦР у пациентов с алкогольной болезнью печени. Крупномасштабный метаанализ выявил повышенный риск развития цирроза печени при любом уровне потребления алкоголя по сравнению с теми, кто воздерживается от алкоголя в течение длительного времени. Риск возрастает от 1 напитка в день с коэффициентом риска 1,4 до коэффициента риска 10,70 при употреблении 7 и более доз в день [34]. Цирроз, как независимый фактор риска, повышает риск развития ГЦР у пациентов с заболеваниями печени, связанными с употреблением алкоголя. Алкоголь может усугубить прогрессирование фиброза, а также риск развития ГЦР на фоне цирроза печени, вызванного HBV/HCV [40, 106]. В то же время было доказано, что отказ от алкоголя снижает риск развития ГЦР у пациентов с алкогольным ЦП [130].

Генетические полиморфизмы ферментов метаболизма алкоголя могут существенно влиять на риск и прогрессирование АБП и канцерогенеза печени, влияя на скорость метаболизма алкоголя и накопление токсичных метаболитов, особенно ацетальдегида [46, 48]. В некоторых ранних литературных источниках сообщалось, что полиморфизмы алкогольдегидрогеназы 1 и альдегиддегидрогеназы 2 могут изменять риск прогрессирования алкогольного цирроза и гепатоканцерогенеза [136]. Два исследования, проведённые среди японцев, показали, что у людей с комбинацией *ALDH2*1/*2* и *ADH2*2/*2* риск развития ГЦР выше, чем у людей с *ALDH2*1/*1* [47, 136].

Этанол и его метаболиты, такие как ацетальдегид и ацетат, формируют микроокружение опухоли при ГЦР. Несмотря на вероятный канцерогенный эффект ацетальдегида и ацетата, образующихся из этанола, нет прямых доказательств того, что они регулируют пролиферацию клеток ГЦР и иммунные реакции в микроокружении опухоли. Ацетат считается источником питательных веществ для раковых клеток [205].

1.5.2. Возможности неинвазивной диагностики фиброза у пациентов с АБП

Стадия фиброза является наиболее сильным предиктором прогноза при заболеваниях печени [100]. Биопсия печени рекомендована больным АБП лишь в случаях уточнения диагноза или для верификации сопутствующих заболеваний печени по строгим показаниям с предварительным уточнением уровня тромбоцитов и характера коагулограммы [5, 6, 7]. Для оценки тяжести фиброза (стадии заболевания) у лиц с бессимптомным течением АБП рекомендуют использовать неинвазивные анализы крови и или эластометрию печени [5, 6, 7, 22, 163]. Однако следует отметить, что воспаление, определяемое уровнем АсАТ > 200 МЕ/л и/или повышенным уровнем сывороточного билирубина, а также выраженный стеатоз могут искажать и завышать показатели эластометрии у пациентов с АБП, что ограничивает ценность метода у данных больных [161].

Рекомендовано использовать такие неинвазивные тесты, как ФиброТест, ФиброМетр, Heparscore [5, 6, 7, 91]. Однако эти комплексные коммерческие тесты не всегда доступны пациентам. В рутинной клинической практике можно использовать показатель FIB-4 – маркер, основанный на анализе крови, в котором учитывается количество тромбоцитов, активность аминотрансфераз и возраст пациентов. Однако этот тест имеет скрининговое значение, так как позволяет только ограничить отсутствие фиброза / минимальный фиброз от тяжелого продвинутого фиброза, а целый ряд пациентов попадает в «серую зону». FIB-4 обладает высокой чувствительностью (80-90%), но низкой

специфичностью (60-70%) при исключении прогрессирующего фиброза [19, 22].

Поиск новых неинвазивных методов диагностики фиброза у пациентов с АБП имеет важное клиническое значение.

1.6. Основные принципы терапии пациентов с АБП

Стратегия лечения АБП включает в себя, прежде всего, полную абстиненцию. Воздержание от приема алкоголя улучшает выживаемость у пациентов с установленным диагнозом АБП. В исследовании, включавшем 283 пациента с алкогольным ЦП при 5-летнем наблюдении, была продемонстрирована значительная разница в выживаемости между воздерживающимися пациентами и продолжающими употреблять алкоголь – соответственно 63% и 45% [167, 180]. Эти данные были подтверждены и другими исследователями в ходе 7-летнего наблюдения за 100 пациентами с алкогольным ЦП [44]. Имеются сведения, что комплексное лечение с участием гепатолога и нарколога более эффективно [122, 153)

Каждому пациенту с АБП требуется оценка нутритивного статуса, поскольку у этих пациентов часто наблюдается недостаточное питание [135]. Тяжесть нутритивных нарушений связана с тяжестью заболевания печени [91]. Пациентам с АГ рекомендуется потреблять 35 ккал / кг / день при потреблении белка 1,2-1,5 г / кг / день. Те пациенты, которые потребляют <21 ккал/кг/сут, должны получать нутритивную поддержку, предпочтительно перорально / энтерально [5, 6, 7, 22]. А также правильное питание пациентов с ЦП заключается в восполнении дефицита витаминов и минералов (тиамина, витамина В12 и цинка), характерных для лиц, злоупотребляющих алкоголем [98].

Инфекционные осложнения являются частым явлением у пациентов с АГ. В проспективном исследовании из 1092 пациентов с АГ у 12,4% была отмечена инфекция до лечения; из остальных 957 пациентов у 251 развилась инфекция во

время лечения глюкокортикостероидами (ГКС) или пентоксифиллином, а у 89 чел. инфекция развилась после лечения [132]. Применение ГКС увеличивало частоту инфицирования, но не влияло на выживаемость [76]. Исследования по профилактическому применению антибиотиков у пациентов с АГ противоречивы. В плацебо-контролируемом исследовании у пациентов с АГ применение рифаксимины в течение 90 дней снижало количество инфекционных и продемонстрировало тенденцию к снижению 90-дневной смертности по сравнению с контрольной группой [94, 197]. Однако 7-дневный курс перорального приема ванкомицина, гентамицина и меропенема у 14 пациентов с АГ не показал улучшения 90-дневной выживаемости по сравнению с группой контроля [165].

Пациентам с тяжелой АГ (MELD>20) рекомендуется лечение ГКС при отсутствии противопоказаний. Преднизолон назначается в дозе 40 мг в день в течение 4 недель. При тяжелом АГ и показателями MELD от 25 до 39 отмечается максимальная эффективность от применения ГКС; при назначении кортикостероидов пациентам с MELD> 50 требуется тщательное рассмотрение рисков и пользы [128].

Пентоксифиллин – ингибитор фосфодиэстеразы и TNF- α , одного из основных цитокинов, предположительно участвующих в патогенезе АГ [191]. Была показана польза от приема пентоксифиллина в дозе 400 мг 3 раза в день в течение 28 дней [156], но далее в исследовании STOPAH не было выявлено преимуществ в выживаемости больных [182]. Кроме того, препарат не был эффективен в качестве дополнительной терапии к ГКС [81, 211].

Мета-анализ, сравнивающий различные фармакологические средства, показал, что комбинация преднизолона и 5-дневной инфузии N-ацетилцистеина обеспечивает улучшение выживаемости при 85% снижении риска смерти от АГ [90]. Антиоксидантные коктейли и витамин E не показали своей эффективности при тяжелом АГ [18, 52].

В терапии тяжелого АГ S-аденозилметионин при добавлении к преднизолону не продемонстрировал сравнительно с монотерапией

преднизолоном относительно 28-дневной выживаемости, однако было отмечено снижение частоты гепаторенального синдрома [10, 152, 183]. Пациентам с алкогольным ЦП класса А и В по Чайлд–Пью возможно назначать адеметионин, который приводит к улучшения клинико-биохимических показателей и снижению летальности [198, 202]. Предполагают, что позитивный эффект адеметионина определяется его мембранопротективным и антиоксидантным действием, а также ингибированием продукции провоспалительных цитокинов [5, 6, 7]. У больных АБП в российском клиническом исследовании продемонстрирован позитивный противовоспалительный эффект препарата Фосфоглив, содержащий натрия глицирризинат [12]. При наличии показаний может быть рекомендовано назначение препаратов калия, магния, витаминов В1, В6, В12, РР), аскорбиновой кислоты (витамин С) и фолиевой кислоты [5, 6, 7].

Лечение пациентов с ЦП алкогольного генеза должно быть таким же, как и пациентов с циррозом печени другой этиологии [22]. Рекомендована коррекция всех имеющихся клинических проявлений, свойственных ЦП [4, 6]. При наличии симптомов ПЭ рекомендовано назначение препаратов Орнитина для профилактики и терапии гипераммониемии [14, 50, 69]. Возможна также трехкомпонентная терапия с добавлением лактулозы и рифаксимины, что вызывала большее снижение аммониемии, уменьшению выраженности ПЭ и летальности [150].

Прогноз течения АБП зависит от наличия различных факторов. Это и полиморфизм генов алкоголь-метаболизирующих ферментов, формирующий генетическую детерминированность, и темпы формирования фиброза печени. Однако в этих вопросах имеется значительное количество неясностей и противоречий. Дальнейшее изучение этих вопросов может способствовать совершенствованию прогнозирования течения и улучшение методов терапии этого контингента больных с разработкой индивидуального подхода к лечению.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Клиническая характеристика пациентов

В наше исследование было включено 97 пациентов с клинической симптоматикой и лабораторно-инструментальными признаками алкогольной болезнью печени. Все участники исследования находились на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», являющегося клинической базой кафедры госпитальной терапии Ставропольского государственного медицинского университета. Локальный этический комитет СтГМУ одобрил данное исследование до его начала.

Критерии включения в исследование:

- пациенты мужского и женского пола в возрасте от 18 до 70 лет;
- наличие алкогольной зависимости, выявленное при опросе и анкетировании с помощью теста «AUDIT» и анкеты-опросника «CAGE»;
- употребление алкоголя более 14 стандартных доз алкоголя в неделю для мужчин и 7 стандартных доз для женщин;
- наличие клинических признаков алкоголизма: гиперплазия околоушных желез, телеангиэктазии, капиллярная сеть в области декольте, контрактура Дюпюитрена, гепатомегалия;
- наличие лабораторно-инструментальных признаков АБП: макроцитоз и гиперхромия эритроцитов, высокий уровень ГГТ, коэффициент де Ритиса >1 ; повышение безуглеводистого трансферрина в крови;
- подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения:

- присутствие маркеров гепатотропных вирусов – anti-HCV, HBsAg;
- лекарственное поражение печени;
- аутоиммунные болезни печени;
- болезни накопления печени;

- онкологические заболевания в настоящее время или в анамнезе;
- очаговые образования в печени и/или высокие уровни альфа-фетопротеина (АФП);
- алиментарное ожирение – пациенты с индексом массы тела (ИМТ) >30.

Контрольная группа была сформирована из 144 здоровых добровольцев, не употребляющих алкоголем в гепатотоксических дозах. Группа здоровых была сопоставима с пациентами с АБП по полу и возрасту: женщин было 49 (34%), мужчин – 95 (66%), возраст их составил $45,7 \pm 4,9$ года. Согласно рекомендациям Российского общества по изучению печени и Европейской ассоциации по изучению печени за 1 стандартную дозу («standart drink») принимали 10 г чистого этанола, что соответствовало 30 мл крепких напитков, 100 мл сухого вина или 250 мл 5% пива [5, 6, 7, 91]. Принято считать опасными для здоровья ежедневные дозы в 30 мл чистого этанола для мужчин и 20 мл для женщин, а также употребление более 14 доз в неделю для мужчин и 7 доз для женщин повышает риск развития АБП [7].

До включения в исследование все пациенты с АБП и здоровые лица заполняли информированное согласие участника исследования. По типу исследования это было открытое проспективное исследование. Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

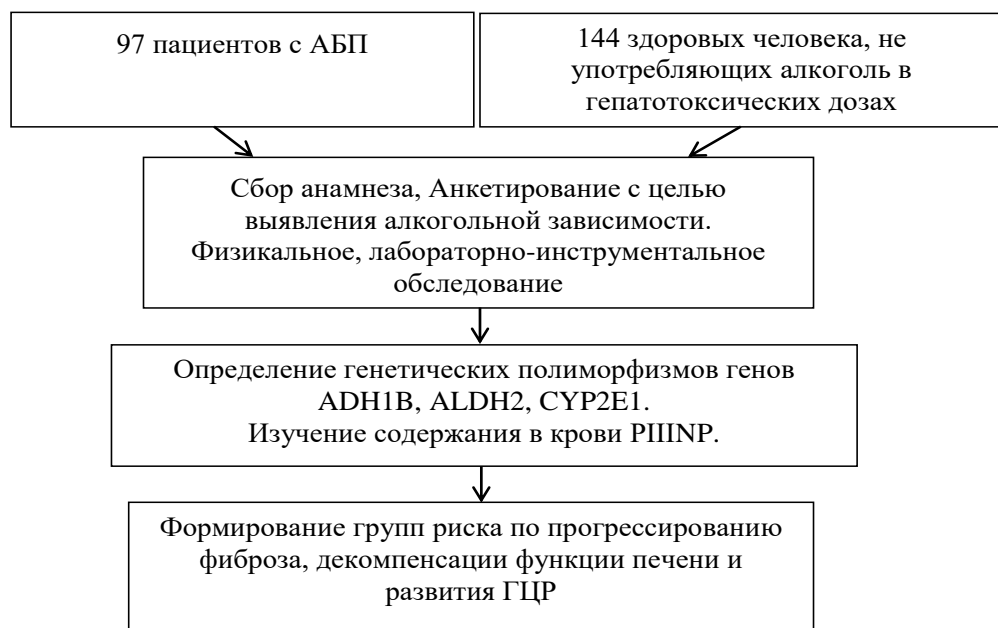


Рисунок 2 – Дизайн исследования

В нашем исследовании преобладали мужчины, их было вдвое больше – 67 чел. (69,1%), а женщин было всего лишь 30 (30,9%).

Средний возраст пациентов составил $48,5 \pm 9,9$ лет с колебанием от 27 до 70 лет. На рисунке 3 графически представлено распределение пациентов согласно возрастной периодизации жизни человека.

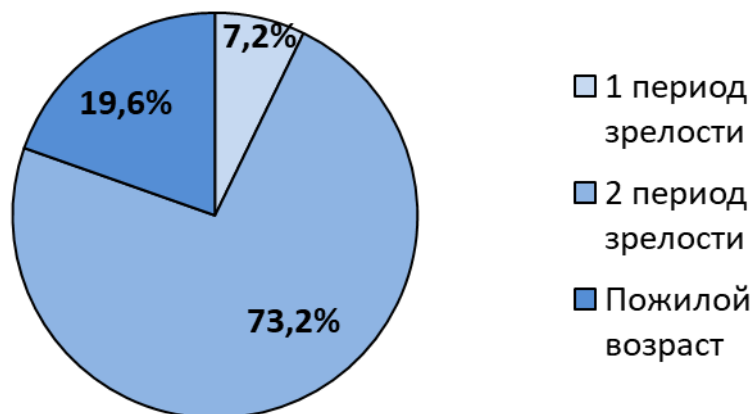


Рисунок 3 – Возрастное распределение пациентов с алкогольной болезнью печени

На рисунке 3 продемонстрировано, что преобладали лица 2-го периода зрелости. Именно это контингент трудоспособного возраста среди пациентов с заболеваниями печени, связанными с алкоголизмом, подчеркивает важное социальное значение проблемы АБП. Только 19 чел. было пожилых пациентов, а лиц до 35 лет всего 7 чел.

В исследование не включали пациентов с ИМТ >30 , так как в таких случаях в результаты исследования вносило бы весомый вклад наличие метаболически-ассоциированной жировой болезни печени.

По результатам тестирования у включенных в исследование пациентов результаты по опроснику «CAGE» составили $2,27 \pm 1,11$ баллов. По данным анкет опросника «AUDIT» распределение баллов было отличным от нормального, и мы описали их с помощью медианы и квартилей – 12 (8 – 18 баллов).

Согласно клиническим рекомендациям всем госпитализированным пациентам с АБП. в стационаре назначалось необходимое клиническое, лабораторное и инструментальное обследование, [5, 6, 7]. Клинические диагнозы были сформулированы в результате обследования пациентов. У 12 человек был диагностирован алкогольный стеатоз печени. В 74 случаях был диагностирован сформировавшийся цирроз печени. У 11 больных имелась клиническая картина тяжелого алкогольного гепатита, однако у этих пациентов не было признаков сформировавшегося ЦП. В то же время, в 16 случаях АГ развивался на фоне сформировавшегося цирроза. Далее мы объединили группу АГ с ЦП и без цирроза, эти 27 чел. рассматривали совместно при анализе данных собственных исследований, учитывая схожесть клинической картины и данных лабораторных исследований.

Как показано в таблице 1, жалобы пациентов зависели от клинического варианта АБП. В случаях со стеатозом печени, в основном, отмечалась астеническая симптоматика (слабость и быстрая утомляемость). Кроме того, этих больных беспокоил дискомфорт в правом подреберье, иногда вздутие живота и жалобы диспепсического характера – ощущение тяжести после еды в эпигастрии или чувство быстрого насыщения.

При АГ тяжелого течения имелась совершенно другая клиническая симптоматика. В этих случаях присоединялись симптомы печеночной энцефалопатии (нарушения формулы сна, изменение поведения, заторможенность или возбуждение), геморрагический синдром (66,7%) в виде носовых кровотечений, гематом (в том числе, постинъекционных), меноррагий у женщин и геморроидальных кровотечений. Все больные с тяжелым алкогольным гепатитом жаловались на вздутие живота, а у 19 из них выявлялся асцит. Кожный зуд, как проявление холестаза, беспокоил 17 человек.

Таблица 1 – Жалобы, предъявляемые пациентами с АБП

Жалобы	Стеатоз (n=12)	АГ (n=27)	ЦП (n=58)
	Абс. число / %	Абс. число / %	Абс. число / %
Астенизация	9 (75,0%)	27 (100%)	50 (86,2%)
Нарушение формулы сна	0 (0%)	24 (89,0%)	25 (43,1%)
Боли, тяжесть или дискомфорт в правом подреберье	8 (66,7%)	24 (88,9%)	50 (86,2%)
Диспепсическая симптоматика	10 (83,3%)	26 (96,3%)	49 (84,4%)
Вздутие живота	5 (41,6%)	27 (100%)	50 (86,2%)
Увеличение живота (асцит)	0 (0%)	19 (70,3%)	25 (43,1%)
Отечность или пастозность нижних конечностей	0 (0%)	12 (44,4%)	22 (37,9%)
Кожный зуд	0 (0%)	17 (62,9%)	19 (32,7%)
Геморрагические симптомы	0 (0%)	18 (66,7%)	24 (41,4%)
Нарушение стула (запоры или неустойчивый стул)	5 (41,6%)	17 (62,9%)	28 (48,2%)

Жалобы пациентов с ЦП зависели от класса цирроза по шкале Чайлд-Пью: класс А – 11 человек, класс В – 26 человек, а класс С – 21 больной. Большинство пациентов отмечали астенизацию (86,2%). Сон был нарушен у 43,1% пациентов. 50 пациентов отмечали упорное вздутие живота, но только у половины из них (43,1% от общего количества больных с циррозом печени) выявлялся асцит различной выраженности (от минимального по данным УЗИ до пальпируемого или напряженного). У 37,9% больных были жалобы на отеки нижних конечностей. Часто пациенты отмечали и проявление геморрагического синдрома – 41,4% случаев цирроза.

Объективная симптоматика при АБП также зависела от клинического варианта заболевания (таблица 2). При стеатозе желтушное окрашивание / иктеричность кожи и склер наблюдали только у двух пациентов, в то время как при АГ тяжелого течения желтуха присутствовала у всех больных, а в случаях

цирроза у 74,1% пациентов. У 75% пациентов со стеатозом имелись кожные печеночные знаки (телеангиэктазии, пальмарная и плантарная эритема, капиллярная сеть в зоне декольте), эти же симптомы отмечали у всех больных с АГ и у 39 (67,2%) пациентов с ЦП. Расчесы на коже видели при наличии синдрома холестаза – 17 чел. с АГ и 19 чел. с ЦП. Проявления геморрагического синдрома на коже (петехии, подкожные кровоизлияния) наблюдали у 18 пациентов с тяжелым АГ и 23 пациентов с ЦП.

Таблица 2 – Объективные симптомы у пациентов с АБП

Симптомы	Стеатоз (n=12)	АГ (n=27)	ЦП (n=58)
	Абс. число / %	Абс. число / %	Абс. число / %
Кожные печеночные знаки	10 (75,0%)	27 (100%)	39 (67,2%)
Желтушность кожи и склер	2 (16,6%)	27 (100%)	43 (74,1%)
Расчесы на коже	0 (0,0%)	17 (62,9%)	19 (32,7%)
Наличие геморрагий на коже	0 (0,0%)	18 (66,7%)	23 (39,6%)
Гепатомегалия	12 (100%)	27 (100%)	53 (91,4%)
Спленомегалия	0 (0,0%)	26 (96,3%)	49 (84,4%)
Асцит	0 (0,0%)	19 (70,3%)	34 (58,6%)
Отечность или пастозность нижних конечностей	0 (0,0%)	12 (44,4%)	22 (37,9%)

Гепатомегалия определялась у всех пациентов с АГ и стеатозом, а при ЦП в 5 случаях печень пальпировать не удавалось, так как ее размеры были уменьшенные – это пациенты с классом С по Чайлд-Пью. У остальных 53 больных ЦП пальпировалась увеличенная плотная и бугристая печень. Увеличенную селезенку пропальпировать удавалось у 26 (96,3%) больных АГ и в 49 (84,4%) случаев цирроза печени. При циррозе спленомегалия по данным инструментальных исследований была у всех пациентов, однако ее не всегда удавалось пальпировать из-за наличия асцита. Асцит той или иной степени выраженности имелся у 19 чел. с АГ и у 34 больных ЦП. следует отметить, что при циррозе класса В по Чайлд-Пью асцит, в основном, определялся по данным

УЗИ. У 12 больных АГ и 22 ЦП имелись еще и отеки/пастозность нижних конечностей.

Данные лабораторных исследований среди всех пациентов различались в зависимости от клинической группы. Так как разброс данных в основном был выражен значительно, то распределение было ненормальным, и мы результаты выражали в виде показателей медианы и 25% и 75% квартилей.

В группе с алкогольным стеатозом печени активность aminотрансфераз практически не отличались от нормы. Уровень АлАТ составил $34,2 \pm 3,3$ Ед/л, а АсАТ $41,2 \pm 2,8$ Ед/л. При этом отмечался повышенный уровень ГГТ – $64,7 \pm 2,4$ Ед/л. У этих пациентов сохранялась нормальная белковосинтетическая функция печени, что отражалось в нормальных значениях общего белка, альбумина и протромбинового времени.

При АГ тяжелого течения наблюдались значительные нарушения показателей общего анализа крови (таблица 3) и выраженные изменения биохимических параметров (таблица 4).

Таблица 3 – Основные показатели общего анализа крови у пациентов с АГ тяжелого течения (Me (Q1- Q3))

Параметры анализа крови	Показатели пациентов	Референсные значения локальной лаборатории
Гемоглобин (г/л)	128,0 (107,0 – 135,0)	120,0 – 160,0
MCV (fl)	103,7 (94,7 – 105,7)	81,0 – 99,0
MCH (pg)	34,5 (31,8 – 36,1)	27,0 – 31,0
Лейкоциты ($\times 10^9$ /л)	10,7 (7,2 – 13,6)	4,0 – 10,0
Тромбоциты ($\times 10^9$ /л)	175,0 (111,0 – 249,0)	150,0 – 400,0

При АГ у больных мы видели выраженный макроцитоз и гиперхромию эритроцитов, что доказывало алкогольную природу поражения печени. Медиана показателя гемоглобина соответствовала референсным значениям, однако у 6 пациентов отмечался снижение гемоглобина ниже 100 г/л. Отмечали в анализах крови нейтрофильный лейкоцитоз у 20 пациентов (74%) с

максимальным подъемом у одного пациента до $32,8 \times 10^9/\text{л}$. У 11 больных отмечали тромбоцитопению, причем у 6 чел. тромбоциты были ниже $100 \times 10^9/\text{л}$, а из них у 4 пациентов – менее $50 \times 10^9/\text{л}$. У больных с выраженной тромбоцитопенией АГ развивался на фоне ЦП.

Таблица 4 – Основные показатели биохимических анализов крови у пациентов с АГ тяжелого течения (Ме (Q1- Q3))

Биохимические параметры	Показатели пациентов	Референсные значения локальной лаборатории
Билирубин общий (мкмоль/л)	127,0 (37,5 – 381,0)	0,0 – 17,0
Билирубин прямой (мкмоль/л)	49,9 (30,5 – 111,0)	0,0 – 5,0
АлАТ (Ед/л)	52,0 (32,0 – 77,7)	< 40,0
АсАТ (Ед/л)	156,0 (65,0 – 183,0)	< 37,0
ЩФ (Ед/л)	382,0 (242,0 – 471,0)	0,0 – 279,0
ГГТ (Ед/л)	405,0 (182,0 – 559,0)	11,0 – 50,0
Общий белок (г/л)	71,6 (65,0 – 72,9)	64,0 – 83,0
Альбумин (г/л)	33,0 (28,4 – 38,0)	34,0 – 50,0
Общий ХС (ммоль/л)	4,93 (3,39 – 5,72)	2,85 – 5,17
Триглицериды (ммоль/л)	1,6 (1,1 – 1,83)	< 1,7
Глюкоза (ммоль/л)	5,3 (4,97 – 6,0)	4,11– 5,89
ПТИ (%)	68,0 (57,0 – 78,0)	90,0 – 105,0 %
ПВ (сек)	15,7 (12,0 – 18,0)	9,1 – 12,1
Фибриноген (г/л)	2,8 (1,8 – 3,1)	2,0 – 4,0
СРБ (мг/л)	23,2 (13,8 – 44,3)	0,0 – 5,0

Данные, приведенные в таблице 4 свидетельствуют о значительных нарушениях биохимических показателей у пациентов с тяжелым АГ. У пациентов отмечалась выраженная гипербилирубинемия, как за счет гепатоцеллюлярной недостаточности, так и как проявление синдрома холестаза. Активность аминотрансфераз также была значительно повышена, причем медиана АсАТ в 3 раза превышала медиану АлАТ. Особенно обращало внимание при алкогольном гепатите наличие у пациентов очень высоких уровней ГГТ. Повышенная активность ЩФ отражала наличие холестатических

вариантов АГ – 17 чел. Отражением гепатоцеллюлярной недостаточности явилась гипоальбуминемия, снижение показателей ПТИ и повышение ПВ. Содержание холестерина в крови пациентов с АГ колебалось от низкого уровня при тяжелой ГЦН до повышенных при холестазае. У больных АГ был повышен уровень СРБ, как проявление МВС. 9 пациентов среди наших пациентов с АГ имел значение MDF более 32.

Из показателей анализов крови больных с ЦП (таблица 5) обращало на себя внимание, что медиана показателей гемоглобина находилась у нижних границ референсных значений. Однако у 12 пациентов отмечалось снижение гемоглобина ниже 100 г/л. У этих лиц имелись клинические признаки геморрагического синдрома, а в анамнезе отмечались различные кровотечения (маточные у женщин, геморроидальные, кровотечения из варикозных вен пищевода). У 42 (72,4%) пациентов отмечалась тромбоцитопения, при этом уровень тромбоцитов от 50 до $100 \times 10^9/\text{л}$ был у 21 чел., а ниже $50 \times 10^9/\text{л}$ – у 6 больных. У 11 пациентов (18,8%) выявляли лейкопению за счет гиперспленизма.

Таблица 5 – Основные показатели общего анализа крови у пациентов с алкогольным ЦП (Me (Q1- Q3))

Параметры анализа крови	Показатели пациентов	Референсные значения локальной лаборатории
Гемоглобин (г/л)	124,0 (111,5 – 136,5)	120,0 – 160,0
МСV (fl)	90,3 (85,7 – 93,8)	81,0 – 99,0
МСН (pg)	31,0 (28,9 – 32,5)	27,0 – 31,0
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	5,9 (4,2 – 7,55)	4,0 – 10,0
Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	106,0 (66,0 – 154,0)	150,0 – 400,0

Биохимические параметры пациентов с ЦП также были изменены (таблица 6). Показатели как общего, так и прямого билирубина были повышены, но были ниже, чем при АГ (в обоих случаях $p = 0,0002$). Наблюдалось повышение активности ГГТ, однако также в меньшей степени,

чем у пациентов с тяжелым АГ ($p = 0,00008$). Отмечалась относительно больших АГ и меньшая активность аминотрансфераз: АЛАТ ($p = 0,0008$) и АсАТ ($p = 0,0001$). Показатели белковосинтетической функции печени (общий белок, альбумин, ПТИ, ПВ и фибриноген) не отличались от соответствующих параметров при АГ. В то же время имело место наличие более низких уровней маркеров обмена липидов: уровень холестерина ($p = 0,03$) и ТГ ($p = 0,002$) были ниже при ЦП, чем при АГ, имелась также тенденция к снижению СРБ относительно случаев АГ, но это различие оказалось незначимым – $p = 0,07$.

Таблица 6 – Основные показатели биохимических анализов крови у пациентов с алкогольным ЦП (Ме (Q1- Q3))

Биохимические параметры	Показатели пациентов	Референсные значения локальной лаборатории
Билирубин общий (мкмоль/л)	38,6 (24,1 – 55,2)	0,0 – 17,0
Билирубин прямой (мкмоль/л)	16,2 (9,8 – 32,0)	0,0 – 5,0
АЛАТ (Ед/л)	27,5 (18,3 – 46,9)	< 40,0
АсАТ (Ед/л)	47,1 (33,7 – 82,8)	< 37,0
ЩФ (Ед/л)	329,7 (221,0 – 408,5)	0,0 – 279,0
ГГТ (Ед/л)	104,3 (51,3 – 239,1)	11,0 – 50,0
Общий белок (г/л)	74,8 (65,5 – 78,1)	64,0 – 83,0
Альбумин (г/л)	33,7 (28,3– 40,6)	34,0 – 50,0
Общий ХС (ммоль/л)	3,6 (3,2 – 4,1)	2,85 – 5,17
Триглицериды (ммоль/л)	0,8 (0,6 – 1,83)	< 1,7
Глюкоза (ммоль/л)	5,2 (4,7 – 5,9)	4,11– 5,89
ПТИ (%)	77,0 (67,0 – 87,0)	90,0 – 105,0 %
ПВ (сек)	15,4 (13,1 – 17,5)	9,1 – 12,1
Фибриноген (г/л)	2,4 (1,8 – 2,6)	2,0 – 4,0
СРБ (мг/л)	17,9 (5,6 – 30,1)	0,0 – 5,0

По данным УЗИ у больных стеатозом выявляли увеличение размеров печени и признаки жировой дистрофии печеночной ткани, однако признаков портальной гипертензии не отмечалось. У всех пациентов с АГ находили увеличение размеров печени и в 96,3% случаев спленомегалию. Наличие

свободной жидкости в брюшной полости при АГ отмечалось у 19 больных. В случаях ЦП гепатомегалию регистрировали у 53 больных, размеры селезенки превышали норму у 49 чел., отмечали также расширение диаметра сосудов портальной системы. У 34 больных циррозом имелись признаки асцита.

При ЭГДС варикозное расширение вен пищевода было выявлено у 70 чел. (72,1%). При этом 1-я степень варикоза по Шерцингеру А.Г. [15] выявлялась у 34 (35%) пациентов, 2-я степень – у 22 (22,7%) чел., 3-я степень – у 14 (14,4%) чел. У 12 пациентов в анамнезе имели место кровотечения из вен пищевода, в 7 случаях ранее проводилось лигирование варикозных вен.

Эластометрия печени у больных с алкогольным стеатозом показала плотность печени 5,5 (4,8 – 6,4) кПа. У пациентов с ЦП во всех случаях показатели эластометрии превышали 12,5 кПа. В случаях тяжелого АГ метод эластометрии не всегда был применим, так как наличие высоких показателей аминотрансфераз (>5 норм) делает результаты исследования некорректными.

По данным вычисленного неинвазивного показателя фиброза FIB-4 при стеатозе печени его значения составили 1,56 (0,95 – 2,13). При этом у 7 пациентов уровень FIB-4 был выше границы показателя минимального фиброза 1,45 и оказывался в «серой зоне», не достигая условного критерия тяжелого фиброза 3,25. В группе АГ 24 (89%) пациентов имели показатели FIB-4 выше 3,25, а при алкогольном ЦП все пациенты имели значительное повышение значения этого индекса – 4,6 (2,8 – 9,0).

Пункционная биопсия печени выполнялась 7 пациентам с алкогольным стеатозом и 15 пациентам с ЦП с целью верификации диагноза. В случаях стеатоза отмечалась жировая дистрофия гепатоцитов, отсутствие фиброза или минимальный фиброз, отсутствие воспаления в пределах печеночной дольки и портальных трактов. При ЦП чаще всего биопсия проводилась при сомнениях в этиологии патологического процесса. Здесь обращали на себя внимание характерные для алкогольной этиологии поражения признаки: характер инфильтрата (преимущественно нейтрофильные лейкоциты), наличие жировой дистрофии гепатоцитов, телец Мэллори. У всех этих пациентов имелось

нарушение архитектоники печени – наличие фиброза F-4 и узловая перестройка паренхимы. Больным с тяжелым АГ печень не пунктировали, так как принимали во внимание наличие высоких рисков процедуры.

Таблица 7 – Сопутствующая патология у пациентов с АБП

Сопутствующие заболевания	Количество пациентов
	Абс. число (%)
Дисфункции билиарного тракта	16 (16,5%)
Желчнокаменная болезнь (билиарный сладж, хронический калькулезный холецистит)	17 (17,5%)
Хронический панкреатит	24 (24,7%)
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	20 (20,6%)
Хронический гастрит, хронический дуоденит	26 (26,8%)
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	7 (7,2%)
Синдром раздраженной кишки	6 (6,2%)
Гипертоническая болезнь	12 (12,3%)
Сахарный диабет 2 типа	4 (4,1%)
Остеоартрит	2 (2,1%)
Мочекаменная болезнь	1 (1%)

В таблице 7 представлена сопутствующая патология у пациентов с алкогольной болезнью печени. Все пациенты при поступлении в стационар получали лечение согласно действующим клиническим рекомендациям [5, 6, 7, 91]. Кроме того, пациентам проводилась в случаях необходимости консультация врача-нарколога, а также объясняли жизненную необходимость дальнейшей абстиненции.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Диагностика алкогольного генеза заболевания печени

Для включения в исследование, прежде всего, необходимо было удостовериться в алкогольной природе заболевания. Анкетирование с помощью специальных опросников проводили всем пациентам. Тест «AUDIT» (Alcohol Use Disorders Inventory Test) был разработан как простой метод скрининга на предмет чрезмерного употребления алкоголя и для проведения краткой оценки (Приложение 1). Он может помочь выявить чрезмерное употребление алкоголя как причину заболевания, а также выявить алкогольную зависимость. Считается, что лица, набравшие ≥ 8 баллов, злоупотребляют алкоголем. При количестве набранных баллов 16-19 пациент употребляет алкоголь в опасных дозах, а при результате 20-40 баллах у пациента имеется высокая вероятность алкогольной зависимости и его надо направить к наркологу [5, 6, 7].

Анкета-опросник «CAGE» более проста в работе и состоит из 4 вопросов, на который следует дать положительный или отрицательный ответ (Приложение 2). Положительный ответ на 1 вопрос не информативен, 2 положительных ответа свидетельствуют об эпизодическом пьянстве, 3 – о систематическом употреблении алкоголя, 4 – о приближающейся или сформировавшейся алкогольной зависимости.

При проведении анкетирования мы допускали, что некоторые пациенты могут умалчивать проблему с зависимостью от алкоголя. В некоторых случаях дополнительно определяли содержание в крови десализированного трансферрина, являющегося косвенным биомаркером употребления алкоголя. При этом принимали во внимание, что косвенные биомаркеры алкоголизма (например, ГГТ, средний объем эритроцитов и безуглеводистый трансферрин) имеют высокую индивидуальную вариабельность [70]. Прямые биомаркеры алкоголя (концентрация этанола в крови, этилглюкуронид, этилсульфат и фосфатидилэтанол) обладают лучшей эффективностью, но не всегда доступны

для определения в условиях клиники и имеют различные временные интервалы обнаружения. Биомаркеры могут быть полезны для выявления недавнего употребления алкоголя у пациентов, которых нельзя опросить из-за энцефалопатии или интоксикации, или, когда сообщения об употреблении алкоголя, как предполагается, неточны [33, 53, 86, 224].

2.2.2. Клинические и лабораторно-инструментальные методы исследования

Всем участникам исследования сразу при поступлении до начала лечения проводилось полное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование согласно действующими клиническими рекомендациями для стационарных пациентов с АБП.

Важное внимание уделяли опросу и данным анамнеза. При осмотре пациентов с помощью физикальных методов применяли изучение антропометрических показателей, использовали методы пальпации, перкуссии и аускультации.

Для лабораторных методов исследования (как стандартных, так и специальных) использовали венозную кровь, забранную утром натощак из периферических вен. Для получения образцов плазмы для специальных методик венозную кровь помещали в пробирки, содержащие ЭДТА. После получения образцов крови не позднее, чем через 30 минут, пробирки центрифугировали в течение 15 минут при 1000g. Образцы плазмы, извлеченные после центрифугирования, замораживали и хранили в морозильной камере при температуре -20°C .

Всем пациентам обязательно выполнялись необходимые для уточнения тяжести заболевания исследования: общий анализ крови и мочи, биохимические показатели крови – билирубин общий и прямой, глюкоза, амилаза, АлАТ, АсАТ, ГГТ, ЩФ, общий белок и белковые фракции, протромбиновое время (ПВ), фибриноген, международное нормализованное

отношение (МНО), липидограмма, С-реактивный белок (СРБ). Для исключения инфицирования гепатотропными вирусами определяли серологические маркеры HBV и HCV инфекций: HBsAg, anti-HBs, anti-HBc и anti-HCV. всем пациентам также определяли уровень АФП.

Всем пациентам с АБП при выполнении ультразвукового исследования (УЗИ) определяли размеры печени и селезенки, позволяющие подтвердить выявляемую при пальпации гепато- и спленомегалию, а также измеряли диаметр сосудов портальной системы. Обращали внимание на наличие симптомов жировой дистрофии (стеатоза) у всех больных с АБП. В случаях с подозрением на очаговые образования в печени выполнялись компьютерная томография или магнитно-резонансная томография с контрастированием гадооксетовой кислотой. Пациенты с подозрением на наличие ГЦР не включались в исследование.

Всем пациентам на аппарате SuperSonic Imagine Aixplorer выполнялась эластометрия печени. Однако принимали во внимание, что при АГ высокий уровень аминотрансфераз, коррелирующих с выраженностью воспалительного отека печени, не позволяет считать полученные данные информативными и истинными.

Морфологическое исследование биоптатов, полученных при биопсии печени, принято считать «золотым стандартом» оценки повреждения печени. Гистологическое исследование предоставляет информацию об архитектонике печени, наличии и степени стеатоза, некровоспаления и фиброза. Тем не менее, это инвазивная процедура имеет некоторые ограничения. Она подвержена ошибкам из-за вариабельности интерпретации, а также из-за небольшой части исследуемой печени, а также связана с дискомфортом пациента и риском тяжелых осложнений, таких как гемобилия или кровотечение [167]. В нашем исследовании биопсии печени были подвергнуты 22 пациента (7 с алкогольным стеатозом и 15 – с ЦП. Чаще целью биопсии было уточнение природы поражения печени и наличие морфологических признаков сопутствующих/фоновых заболеваний печени.

Для уточнения степени фиброза использовали также неинвазивные индексы. Индекс фиброза FIB-4 легко просчитывается на основе доступных клинических параметров (возраст, АЛАТ, АсАТ, уровень тромбоцитов) и является одним наиболее проверенных неинвазивных маркеров заболевания. Индекс FIB-4 $>3,25$ имел специфичность 98,2% и чувствительность 37,6% к наличию прогрессирующего фиброза печени [134, 187].

При проведении ЭГДС у пациентов обращали внимание на наличие варикозно расширенных вен пищевода и кардиального отдела желудка, а также на признаки портальной гастропатии.

2.2.3. Специальные методы исследования

2.2.3.1. Выявление полиморфизмов алкоголь-метаболизирующих ферментов методом ПЦР «SNP-экспресс» с последующей электрофоретической детекцией продуктов реакции

В начале выделяли ДНК из лейкоцитов цельной крови, применяя набор реагентов «ДНК-экспресс-кровь» («Литех», Россия). Венозная кровь в объеме не менее 1 мл забиралась в одноразовую пробирку с раствором антикоагулянта (0,05 М раствор ЭДТА). Далее вносили 1000 мкл перемешанной до однородности цельной крови в пробирку типа «Эппендорф» с замком. Пробирку центрифугировали в течение 5 мин со скоростью 3000 об/мин при комнатной температуре. Итогом центрифугирования являлось разделение крови на форменные элементы и плазму. Плазму извлекали, не захватывая лейкоциты. Однако полное удаление плазмы без примеси лейкоцитов достичь не реально, следовательно, в пробирке оставалась плазма тонким слоем. Закрывали пробирку и помещали ее в морозилку при температуре -20° на 1 час.

Затем при комнатной температуре размораживали содержимое пробирки, а после в равном объеме содержимому пробирки в пробирку добавляли реактив «ДНК-экспресс-кровь». Полученную смесь в течение 10 сек тщательно перемешивали на вортексе. Пробирку с содержимым помещали в термостат при температуре 98°, где выдерживали пробу 15 мин. После помещали пробирку в высокоскоростную микроцентрифугу при комнатной температуре, задавали центрифуге параметры – скорость 13400 оборотов/ мин, время вращения 30 сек. Супернатант извлекали и использовали в качестве образца ДНК.

На следующем этапе проводили амплификацию. Для проведения амплификации использовали пробирки объемом 0,2 мл для всех анализируемых проб и отрицательного контроля. Для каждого анализируемого образца пробы применяли две пробирки: аллель 1 и аллель 2. Комплект реагентов из морозильника доставали за 30 мин до приготовления амплификационной смеси. Пробирки с реакционной смесью и размороженным раствором разбавителя тщательно перемешивали вортексированием. Рабочие смеси для амплификации готовили с помощью реагентов, являющимися компонентами тест-системы. Для 1 пробы было необходимо использовать 17,5 мкл разбавителя, 2,5 мкл реакционной смеси, 0,2 мкл Taq-полимеразы, которую добавляли в последнюю очередь. Необходимы были две рабочие смеси: с реакционной смесью аллель 1 и с реакционной смесью аллель 2. Для каждого компонента использовали отдельные наконечники с аэрозольными фильтрами. Далее полученную смесь смешивали на вортексе. Во все пробирки после вносили по 20 мкл определенной рабочей амплификационной смеси и по 1 капле минерального масла. Аккуратно вносили по 5 мкл образца анализируемой пробы в пробирку с рабочей амплификационной смесью аллель 1 и в пробирку с рабочей амплификационной смесью аллель 2 под слой масла. В качестве отрицательного контрольного образца использовали разбавитель в объеме 5 мкл в оба типа реакционной смеси. На микроцентрифуге-вортексе при комнатной температуре закрытые пробирки центрифугировали при 3000 об/мин

в течение 5 сек. Затем выставляли пробирки в прогретый до 94°C амплификатор и проводили реакцию по следующей программе (таблица 8).

На третьем этапе проводили детекцию продуктов амплификации. В 3% агарозном геле методом горизонтального электрофореза проводили разделение продуктов амплификации. К 3 г агарозы добавляли 100 мл рабочего электрофорезного буфера (трисборатный буфер с бромидом этидия, доведенный дистиллированной водой до 500 мл), полученную смесь расплавляли в микроволновой печи до полного растворения агарозы. Потом расплавленную агарозу перемешивали вращением колбы, потом вновь раствор агарозы помещали в микроволновую печь на 1,5 мин и доводили ее до кипения. Вынимали колбу из печи, агарозу остужали до 65-70 °С.

Таблица 8 – Стандартная программа амплификации

№ п/п	Температура (°С)	Время (сек)	Количество циклов
1	94	пауза	
2	93	60	1
3	93	10	35
	64	10	
	72	20	
4	72	60	1
5	10	хранение	

В форму камеры для горизонтального электрофореза заливали расплавленный гель агарозы. На расстоянии не < 3 см друг от друга, не доставая дна формы, устанавливали гребенки. Толщина геля оказывалась примерно 0,6 см. Гребенки осторожно вынимали из агарозного геля только после полного его застывания (30 мин при комнатной температуре). В камеру для горизонтального электрофореза помещали подложку с гелем, старались располагать лунки ближе к отрицательному электроду. В камеру доливали буфера в таком количестве, чтобы он сверху покрывал гель на 5 мм. Из-под

слоя масла отбирали по 10 мкл проб поочередно и вносили в лунки геля каждую пробу.

Учитывали, что ДНК движется к положительному электроду. Поэтому камеру соблюдая полярность при подключении камеры для электрофореза к источнику тока. Напряженность электрического поля при этом была равна 10 В/см. Когда время электрофореза подходило к концу – обычно краситель крезоловый красный при этом проходил примерно 2/3 длины геля, камеру обесточивали, гель переносили на трансиллюминатор, полосы располагали горизонтально лунками вверх. Фиксировали результаты на изображении геля на компьютере с помощью видеосистемы.

На рисунке 4 представлена электрофореграмма ампликонов анализируемой геномной ДНК при выявлении мутации «алкогольного цитохрома» CYP2E1.

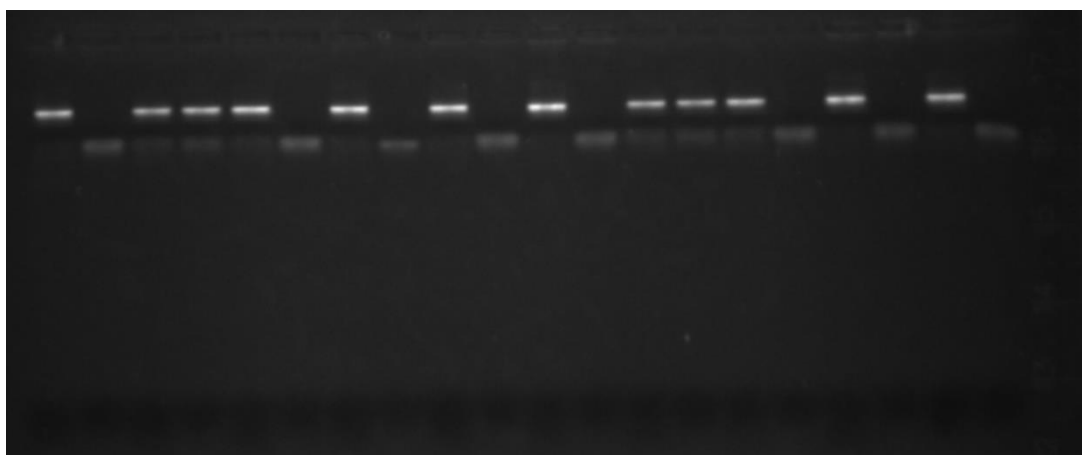


Рисунок 4 – Электрофореграмма ампликонов анализируемой геномной ДНК при выявлении мутации цитохрома CYP2E1 (слева направо: 1 и 2 лунки – гомозигота по 1 аллели, 3 и 4 лунки – гетерозигота)

Исследование выполнялось в лаборатории ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

2.2.3.2. Определение содержания РШНР в крови пациентов с алкогольной болезнью печени

Содержание РШНР в плазме крови определяли методом ИФА с помощью коммерческих тест-систем «Cloude-Clone Corporation» (США). Для анализа образцы плазмы размораживались непосредственно перед исследованием. Для процедуры ИФА-анализа использовали инструкцию, прилагаемую к тест-системе производителем. Дно лунок микропланшета, прилагаемого к данному набору, покрыто антителами, специфичными к РШНР. Стандарты и образцы вносили в соответствующие лунки вместе с биотиновым конъюгатом антител к РШНР. После выполнения всех дальнейших необходимых шагов анализа, предписанных инструкцией, ферментную субстратную реакцию останавливали серной кислотой. С помощью спектрофотометра при длине волны 450 ± 10 нм измеряли интенсивность полученного окрашивания.

На рисунке 5. Представлен один из образцов калибровочной кривой использованных тест систем. Сравнивали оптическую плотность каждого образца с построенной калибровочной кривой и, таким образом, вычисляли концентрации РШНР в 1 мл. Процедура ИФА-анализа выполнялась доцентом кафедры «Клинической биохимии, лабораторной диагностики, бактериологии с курсом ДПО» Роговой С.Ш.

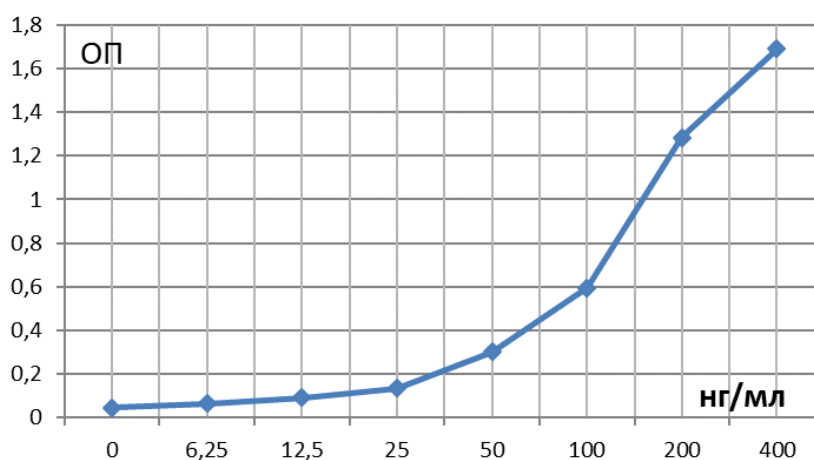


Рисунок 5 – Калибровочная кривая одной из тест-систем для определения содержания РШНР в плазме крови. По оси Y отложены показатели оптической плотности. По оси X – концентрация РШНР в нг/мл

Для определения нормы содержания РПНР в плазме использовали образцы крови 22 здоровых лиц группы контроля. Эти люди были сопоставимы с больными по возрасту и полу и не принимали алкоголь в гепатотоксических дозах. Содержание РПНР в плазме крови здоровых лиц составило 5,7 (3,6 – 8,9) нг/мл.

2.2.4. Методы статистического анализа

Все полученные данные клинической симптоматики, рутинных лабораторных анализов, а также специальных исследований были внесены в таблицы «Microsoft Office Excel». Статистический анализ собранных результатов проводился посредством программных пакетов «Microsoft Office Excel 2010», «Attestat 10.5.1», «IBM SPSS Statistics 21». Для оценки нормальности распределения полученных данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова. Если распределение было нормальным, количественные показатели представлялись как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$). Сравнительный анализ между группами с нормальным распределением осуществлялся посредством критерия Стьюдента. В случаях, когда распределение данных отклонялось от нормального, для их статистического описания применялись медиана и интерквартильный размах, представленные как Me (Q1 - Q3), где Q1 и Q3 обозначают 25-й и 75-й процентиля соответственно. Сравнительный анализ данных в различных группах при ненормальном распределении осуществлялся с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для оценки различий в долях генотипов между группами использовался критерий χ^2 . Статистическая значимость различий определялась при уровне вероятности $p \leq 0,05$. Для установления степени зависимости между исследуемыми переменными проводился корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции Спирмена (r_s).

Чтобы найти оптимальный порог для разделения групп, мы применили

ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic), визуализировав его с помощью ROC-кривой. Диагностическая ценность признаков была количественно оценена в процентном выражении, с последующим вычислением чувствительности (Se), специфичности (Sp), положительной предсказательной ценности (PPV), отрицательной предсказательной ценности (NPV) и общей точности (Ac). Значимость влияния факторов риска оценивалась с использованием отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительного интервала. Автор выражает благодарность за содействие и помощь в наборе клинического материала сотрудникам гастроэнтерологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница» (зав. отделением главный внештатный гастроэнтеролог Ставропольского края к.м.н. Перекалина М.В.).

ГЛАВА 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ АЛКОГОЛЬ- МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)

3.1. Распространенность полиморфизмов гена *ADH1B* у пациентов с алкогольной болезнью печени

Всем пациентам, включенным в наше исследование, проводили генетический анализ на наличие мутаций Arg47His в гене *ADH1B*, Glu504Lys в гене *ALDH2* и G-1293C (c1/c2) в гене *CYP2E1*.

Сведения о частоте полиморфизма гена *ADH1B* (R47H G-> A) у наших пациентов представлены в таблице 9. Обозначение *1 – соответствует дикому аллелю, а *2 – соответственно мутантному аллелю. Анализ частот аллелей и генотипов для полиморфизма Arg47His гена *ADH1B* показал соответствие принципам равновесия Харди-Вайнберга.

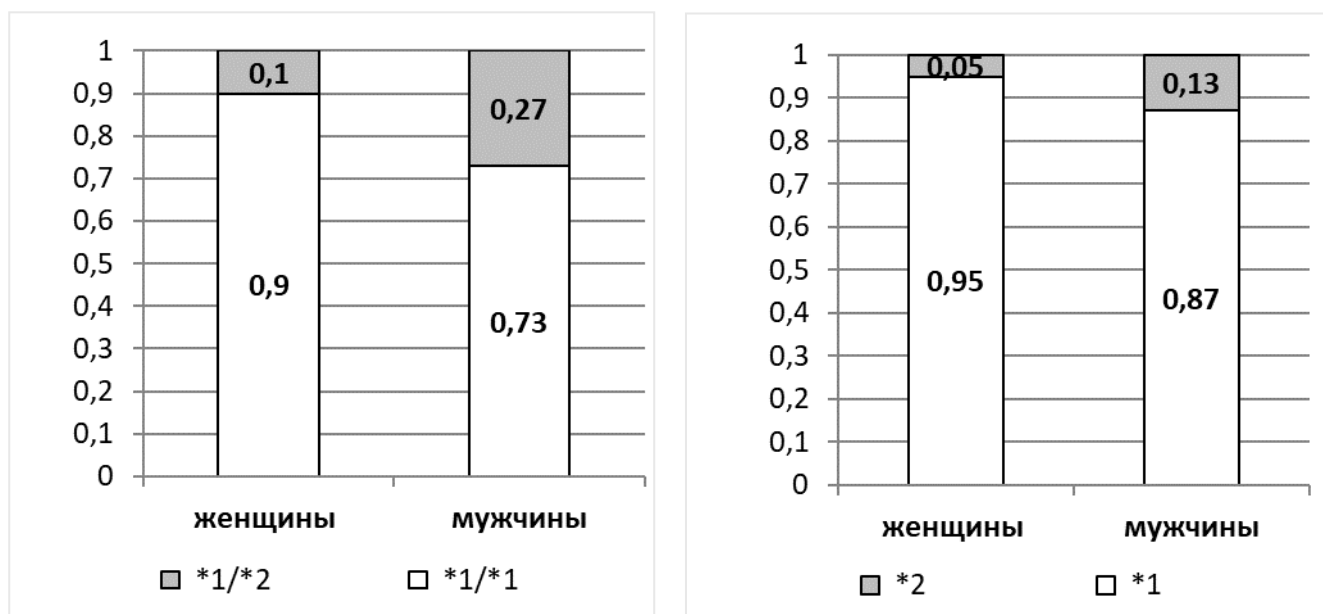
Таблица 9 – Распределение частот генотипов и аллелей мутации Arg47His гена *ADH1B* у пациентов с АБП и здоровых лиц

Генотипы и аллели	АБП, (n=97)	Здоровые лица, (n=144)	P
Генотипы <i>ADH1B</i> Arg47His			
*1/*1	0,78 (n=76)	0,86 (n=124)	0,16
*1/*2	0,22 (n=21)	0,13 (n=18)	0,09
*2/*2	0	0,01 (n=2)	0,34
Аллели			
*1	0,89 (n=173)	0,93 (n=266)	0,32
*2	0,11 (n=21)	0,07 (n=22)	

Примечание: использовался критерий – χ^2 .

Распространенность генотипов *ADH1B* не показала статистически значимых различий между больными АБП и здоровыми индивидами. Доли аллелей *1 и *2 также не отличались между общей группой пациентов и группой сравнения. Следует отметить, что у наших пациентов с АБП мутантный аллель *2 встречался только в гетерозиготном состоянии, тогда как в контрольной группе у двух людей мы наблюдали гомозиготный генотип *2/*2.

Было изучено различие в полиморфизмах гена *ADH1B* у пациентов женского и мужского пола, включенных в исследование. Как видно на рисунке 6 статистически значимых различий между распространенностью генотипов гена *ADH1B* мы не выявили. Половая принадлежность пациентов не оказывала влияния на соотношение аллелей 1 и 2. Важно отметить, что в исследуемой выборке женщин было вдвое меньше, чем мужчин.



А

Б

Рисунок 6 – Доли генотипов (А) и аллелей (Б) гена *ADH1B* Arg47His у мужчин и женщин с АБП

Данные таблицы 10 указывают, что доли генотипов гена *ADH1B* и аллелей *1 и *2 не различались у пациентов разных возрастных групп. В то же

время надо принимать во внимание, что число пациентов II периода зрелости было преобладающим.

Таблица 10 – Распределение частот генотипов и аллелей мутации Arg47His гена *ADH1B* у пациентов с АБП в зависимости от половой принадлежности

Генотипы и аллели	I период зрелости (n=11)	II период зрелости (n=69)	Пожилой возраст (n=17)
Генотипы <i>ADH1B</i> Arg47His			
*1/*1	0,82 (n=9)	0,78 (n=54)	0,77 (n=13)
*1/*2	0,18 (n=2)	0,22 (n=15)	0,23 (n=4)
*2/*2	0	0	0
Аллели			
*1	0,91 (n=20)	0,89 (n=123)	0,89 (n=30)
*2	0,09 (n=2)	0,11 (n=15)	0,11 (n=4)

Таким образом, мы выявили, что частота встречаемости генотипов гена *ADH1B*, а также аллелей *1 и *2 у пациентов с АБП не выявила статистически значимых отличий от таковой в общей популяции, выявленная частота генотипов и аллелей не находилась в зависимости от возрастных характеристик или половой принадлежности исследуемых пациентов.

3.2. Распространенность полиморфизмов гена *ADH1B* у пациентов с пациентами с различными клиническими вариантами АБП

Группа пациентов с АБП была представлена в нашем исследовании разными клиническими вариантами. Был проведен анализ частот генотипов гена *ADH1B* и аллелей в разных клинических подгруппах больных АБП относительно здоровых лиц.

Таблица 11 содержит информацию распространенности генотипов *ADH1B* у пациентов с разными клиническими проявлениями АБП. Была выявлена тенденция к увеличению частоты гетерозиготного генотипа *1/*2 при алкогольном циррозе печени, однако проведенный анализ не подтвердил статистической значимости этой разницы – $p = 0,068$. Тем не менее, минорный аллель *2 гена *ADH1B* оказался более распространенным у пациентов с ЦП, чем у здоровых ($p = 0,049$). В остальных группах пациентов доли генотипов и аллелей *ADH1B* не имели статистически значимых отличий от контрольной группы.

Таблица 11 – Распределение частот генотипов и аллелей мутации Arg47His гена *ADH1B* у пациентов с различными клиническими вариантами АБП и у здоровых лиц

Генотипы и аллели	Здоровые лица (n=144)	Стеатоз (n=12)	Алкогольный гепатит (n=27)	Цирроз печени (n=58)
Генотипы <i>ADH1B</i> Arg47His				
*1/*1	0,86 (n=124)	0,83 (n=10)	0,92 (n=25)	0,71 (n=41)
*1/*2	0,13 (n=18)	0,17 (n=2)	0,08 (n=2)	0,29* (n=17)
*2/*2	0,01 (n=2)	0	0	0
Аллели				
*1	0,93 (n=266)	0,92 (n=22)	0,96 (n=52)	0,85 (n=99)
*2	0,07 (n=22)	0,08 (n=2)	0,04 (n=2)	0,15** (n=17)

Примечание: * - $p = 0,048$ по сравнению с АГ; ** - $p = 0,049$ по сравнению с группой здоровых лиц, использовался критерий – χ^2

Был проведен сравнительный анализ показателя долей генотипов и аллелей гена *ADH1B* между разными клиническими группами пациентов.

Оказалось, что генотип *1/*2 (гетерозиготная форма) был более характерен для пациентов с циррозом печени, чем для больных алкогольным гепатитом.

В группе пациентов с АГ тяжелого течения мы разделили пациентов на 2 подгруппы в зависимости от показателя интегративного индекса Мэддрей (MDF). У 9 чел. с АГ индекс Мэддрей имел значение более 32, а у 18 пациентов показатель MDF не превышал 32. Полученные данные представлены в таблице 12.

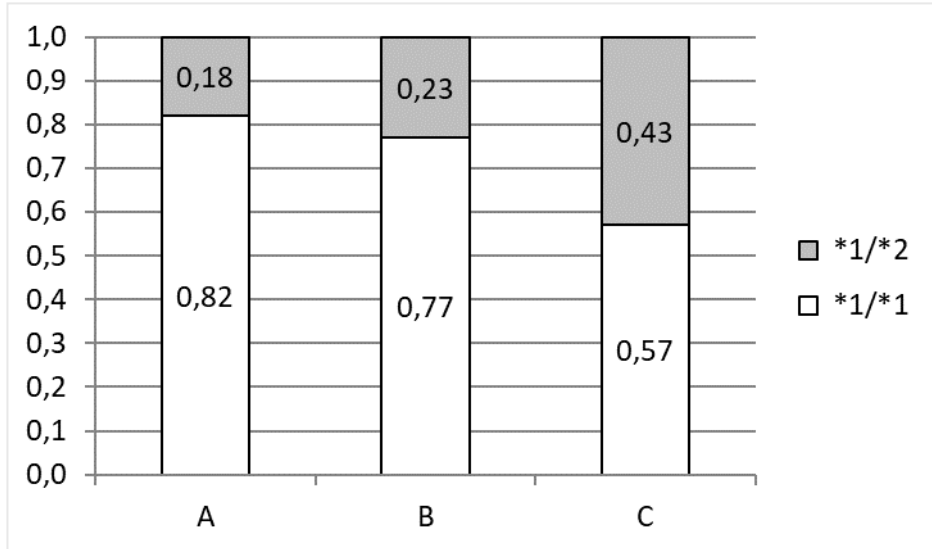
Таблица 12 – Распределение частот генотипов и аллелей мутации Arg47His гена *ADH1B* у пациентов с алкогольным гепатитом тяжелого течения с учетом индекса Мэддрей

Генотипы и аллели	MDF <32 (n=18)	MDF >32 (n=9)
Генотипы <i>ADH1B</i> Arg47His		
*1/*1	0,95 (n=17)	0,83 (n=8)
*1/*2	0,05 (n=1)	0,17 (n=1)
*2/*2	0	0
Аллели		
*1	0,97 (n=35)	0,96 (n=17)
*2	0,03 (n=1)	0,04 (n=1)

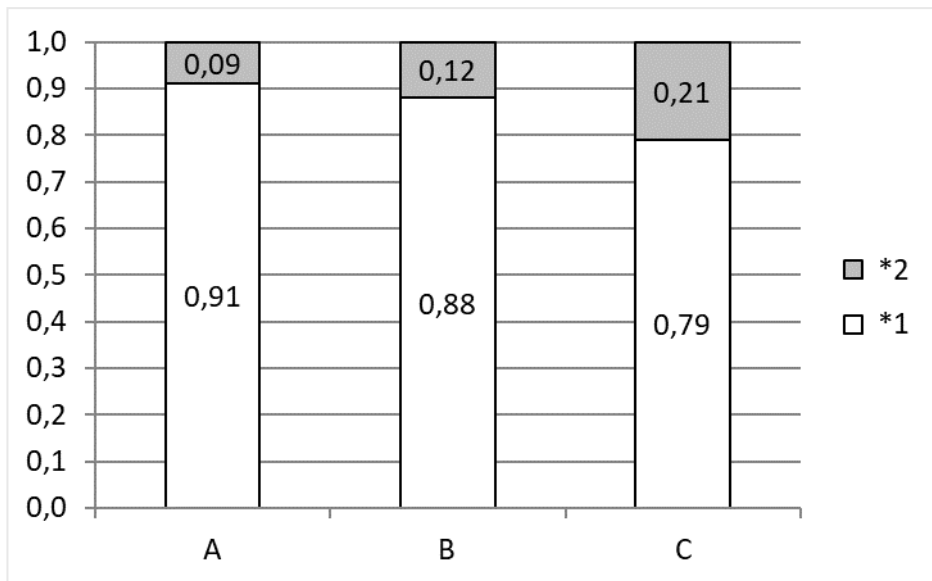
Из данных таблицы 12 следует, что проведенный анализ не доказал статистически значимых различий распределения генотипов и аллелей гена *ADH1B* у пациентов с АГ с разными показателями MDF. В то же время, здесь могло иметь значение небольшое количество пациентов в каждой подгруппе.

Был проведен анализ закономерности распределения генотипов и аллелей гена *ADH1B* у пациентов с алкогольным циррозом с разной степенью тяжести по шкале Чайлд-Пью (рисунок 7). Была замечена тенденция к более частой

встречаемости гетерозиготного генотипа *1/*2 и минорного аллеля *2 при ЦП класса С (21 чел.) сравнительно с компенсированным циррозом класса А (11 чел.), однако эта тенденция оказалась статистически незначимой ($P > 0,05$).



А



Б

Рисунок 7 – Доли генотипов (А) и аллелей (Б) гена *ADH1B* Arg47His у пациентов с алкогольным циррозом печени в зависимости от класса цирроза по шкале Чайлд-Пью

Таким образом, нами было выявлено, что минорный аллель *2 гена *ADH1B* при циррозе печени алкогольной этиологии наблюдался чаще, чем в группе контроля. У пациентов с циррозом печени генотип *1/*2 наблюдался

чаще, чем при алкогольном гепатите. У больных с алкогольным гепатитом частота встречаемости генотипов и аллелей гена *ADH1B* не зависела от показателя интегративного индекса Мэддрея. Не было также различий в долях генотипов и аллелей гена *ADH1B* при разной тяжести ЦП по индексу Чайлд-Пью.

3.3. Распространенность полиморфизмов гена *ALDH2* Glu504Lys у пациентов с алкогольной болезнью печени

В группе обследованных нами пациентов с АБП не было обнаружено мутаций гена *ALDH2* Glu504Lys. При этом в контрольной группе у одного человека был выявлен гетерозиготный генотип аллель *1/*2 с наличием минорного аллеля *2, что составило частоту 0,997 по генотипу *1/*2, а по минорному аллелю *2 доля оказалась равной 0,003. Поэтому далее мы не анализировали полученные данные по этому полиморфизму.

3.4. Распространенность полиморфизмов гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у пациентов с алкогольной болезнью печени

Исследование распространенности генотипов гена *CYP2E1* у пациентов с АБП относительно здоровых лиц показало, что в группе пациентов с заболеваниями печени алкогольной этиологии мутация G-1293C (c1/c2) в гене *CYP2E1* наблюдалась чаще, чем у в группе контроля (таблица 13). И гетерозиготный генотип c1/c2, и минорный аллель c2 встречались чаще у больных АБП, чем у не злоупотребляющих алкоголем людей. Не было отмечено случаев с гомозиготным вариантом c2/c2, у всех пациентов с минорным аллелем c2 имелся только гетерозиготный генотип c1/c2.

Таблица 13 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма G-1293C (c1/c2) гена *CYP2E1* у пациентов с АБП и здоровых лиц

Генотипы и аллели	АБП (n=97)	Здоровые лица (n=144)	P
Генотипы <i>CYP2E1</i> G-1293C (c1/c2)			
c1/c1	0,84 (n=81)	0,93 (n=134)	0,033
c1/c2	0,16 (n=16)	0,07 (n=10)	0,033
c2/c2	0	0	N/A
Аллели			
c1	0,92 (n=178)	0,97 (n=278)	0,038
c2	0,08 (n=16)	0,03 (n=10)	

Примечание: использовался критерий – χ^2 .

Был проведен анализ различий в распространенности генотипов *CYP2E1* в зависимости от пола пациентов. На рисунке 8 хорошо видно, что не было статистически значимых различий в долях генотипов у мужчин и женщин, страдающих алкогольной болезнью печени и включенных в наше исследование.

Анализ долей пациентов различных возрастных групп также не выявил никаких различий. Распространенность долей генотипов c1/c1 и c1/c2 составила соответственно: в I периоде зрелости 0,91 и 0,09 (11 чел.), во II периоде зрелости 0,81 и 0,19 (69 чел.), в пожилом возрасте 0,88 и 0,12 (17 чел.) также не различались и доли аллелей в исследуемых подгруппах. Доли аллелей c1 и c2 в группе I периода зрелости были равны 0,95 и 0,05, во II периоде зрелости – 0,91 и 0,09, а в подгруппе лиц пожилого возраста – 0,94 и 0,06. Статистически значимых различий в распространенности мутантных аллелей среди пациентов разных возрастных групп также не отмечалось.

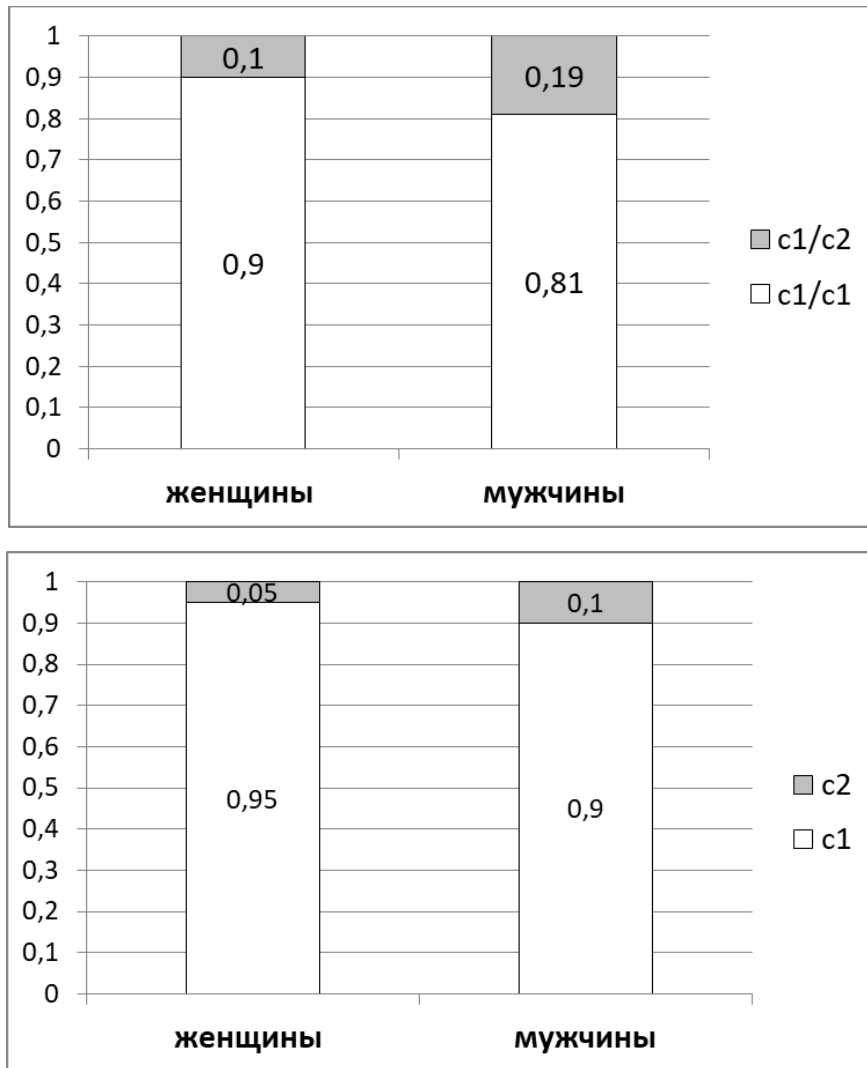
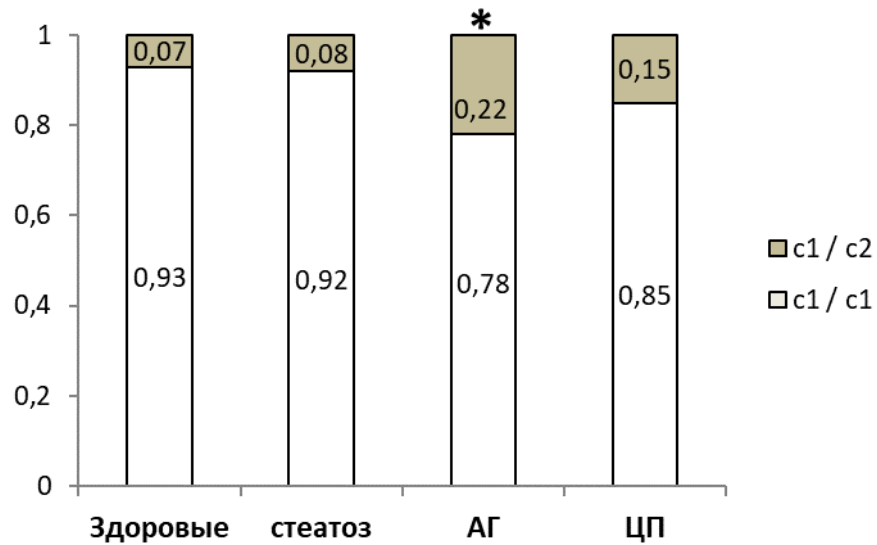


Рисунок 8 – Доли генотипов (А) и аллелей (Б) гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у пациентов с алкогольной болезнью печени в зависимости от пола

Таким образом, мы выяснили, что гетерозиготный генотип c1/c2 гена *CYP2E1* и минорный аллель c2 у пациентов с АБП встречался чаще, чем в здоровой популяции. Распространенность генотипов и аллелей генов исследуемого гена не зависела от возраста и половой принадлежности пациентов.

3.5. Распространенность полиморфизмов гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у пациентов с различными клиническими вариантами АБП

Мы предположили, что имеется неравномерность распределения генотипов полиморфизмов гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) при различных клинических вариантах АБП. Поэтому был проведен анализ долей генотипов и аллелей отдельно для каждой клинической группы.

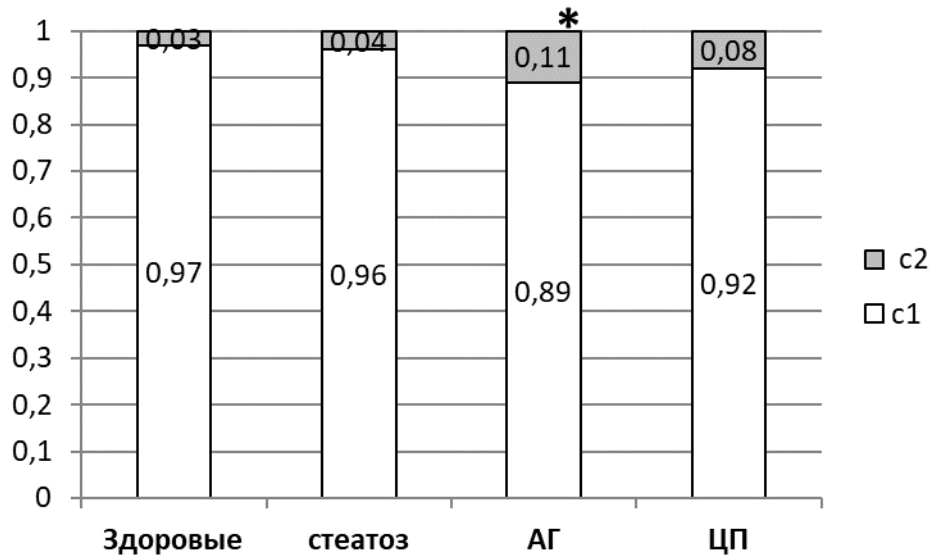


Примечание: * - $p = 0,032$ по сравнению с группой контроля, использовался критерий χ^2 .

Рисунок 9 – Распространенность долей генотипов гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у здоровых и больных с различными клиническими вариантами АБП

Из данных рисунка 9 следует, что при стеатозе печени (12 чел.) алкогольной этиологии не было замечено отличий долей гетерозиготного генотипа c1/c2 в сравнении со здоровыми лицами. Кроме того, при ЦП, индуцированном приемом алкоголя (58 чел.), также не было обнаружено существенных отличий от группы здоровых людей ($p = 0,1$). Однако, среди пациентов с тяжелым алкогольным гепатитом ($n=27$) генотип наблюдалась повышенная частота встречаемости генотипа c1/c2 гена *CYP2E1* относительно здоровых лиц.

Анализ долей аллелей гена *CYP2E1* c1 и c2 (G-1293C) продемонстрировал, что при стеатозе печени алкогольной этиологии встречаемость разных генотипов в цитохрома 2E1 практически была аналогичной группе здоровых лиц (рисунок 10).



Примечание: * - $p = 0,032$ по сравнению со здоровыми, использовался критерий χ^2 .

Рисунок 10 – Распространенность долей аллелей c1 и c2 гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у здоровых и больных с различными клиническими вариантами АБП

При алкогольном гепатите минорный аллель c2 у наших пациентов отмечался чаще, чем у здоровых. У пациентов с наличием аллеля c2 (6 чел.) наблюдали генотип *ADH1B**1/*1 / *ALDH2**1/*1 / *CYP2E1* (c1/c2). Был проведен анализ зависимости тяжести АГ от генетического полиморфизма цитохрома *CYP2E1*, так как группа пациентов с алкогольным гепатитом была неоднородной по тяжести клинических проявлений (таблица 14). У пациентов со значением MDF >32 частота определения гетерозиготного генотипа c1/c2 и минорного аллеля c2 была тенденция к более высоким показателям долей, однако она оказалась статистически незначимой. Предположительно, данное наблюдение связано с ограниченным размером выборки в исследуемых подгруппах.

Таблица 14 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у пациентов с алкогольным гепатитом тяжелого течения в зависимости от значения индекса Мэддрей

Генотипы и аллели	MDF <32 (n=18)	MDF >32 (n=9)
Генотипы <i>CYP2E1</i> G-1293C		
c1/c1	0,83 (n=15)	0,67 (n=6)
c1/c2	0,17 (n=3)	0,33 (n=3)
c2/c2	0	0
Аллели		
c1	0,92 (n=33)	0,83 (n=15)
c2	0,08 (n=3)	0,17 (n=3)

При ЦП распределение генотипов *CYP2E1* и аллелей c1 и c2 не отличались от показателей контрольной группы. При этом важным представляется зависимость наличия полиморфизмов от тяжести заболевания. В ходе анализа зависимости частоты встречаемости генотипов и аллелей от класса цирроза печени по шкале Чайлд-Пью было установлено, что гетерозиготный генотип c1/c2 преобладал среди пациентов с ЦП класса В относительно цирроза класса А (таблица 15). Аналогичная зависимость была характерна для минорного аллеля c2. При ЦП класса С по Чайлд-Пью подобная разница с пациентами класса А оказалось статистически незначимой. Вероятно, это было вызвано меньшим количеством больных в группе с классом С сравнительно с классом В.

В нашем исследовании комбинация неблагоприятных генотипов *ADH1B* (*1/*2) и *CYP2E1* (c1/c2) была зарегистрирована только у четырех человек. Все эти пациенты имели цирроз печени.

Таблица 15 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма гена *CYP2E1* G-1293C (c1/c2) у пациентов с алкогольным циррозом печени в зависимости от класса по шкале Чайлд-Пью

Генотипы и аллели	Класс А (n=11)	Класс В (n=26)	Класс С (n=21)
Генотипы <i>CYP2E1</i> G-1293C			
c1/c1	0,91 (n=10)	0,85 (n=22)	0,81 (n=17)
c1/c2	0,09 (n=1)	0,15* (n=4)	0,19 (n=4)
c2/c2	0	0	0
Аллели			
c1	0,96 (n=21)	0,88 (n=48)	0,79 (n=38)
c2	0,04 (n=1)	0,12** (n=4)	0,21 (n=4)

Примечание: * - $p = 0,011$ по сравнению с классом А; ** - $p = 0,01$ по сравнению с классом А, использовался критерий χ^2 .

Пример присутствия минорного аллеля c2 у пациента с тяжелым алкогольным гепатитом и циррозом печени демонстрирует описание следующего клинического случая.

Клинический пример 1.

Больная Л.Т.Н., 1969 г.р., жительница Ставропольского края, неработающая. ИРК № 28. Поступила в гастроэнтерологическое отделение 16.01.2019 г. ГБУЗ СК «СККБ».

Предъявляла **жалобы** на носовые кровотечения, кровоточивость десен, ректальные кровотечения, желтушность кожи, увеличение в объеме живота, общую слабость, тошноту, снижение веса, общую слабость, повышенную утомляемость, кожный зуд, повышение температуры до $37,5^{\circ}\text{C}$.

Из **анамнеза**: больной себя считает с лета 2018 г. После употребления алкоголя (со слов родственников ежедневно на протяжении двух месяцев) появилась желтушность склер, а затем кожи. За медицинской помощью не обращалась, медикаменты не принимала. В ноябре 2018 г. начали появляться отеки на стопах и голени и увеличился в объеме живот. Обратилась к терапевту по месту жительства, был исключен вирусный гепатит. Далее пациентку направили в терапевтическое отделение ЦРБ Изобильненского района, где был установлен диагноз «Цирроз печени токсической этиологии с проявлениями портальной гипертензии». Проводимое лечение мочегонными препаратами и гепатопротекторами было недостаточно эффективно и пациентку направили для стационарного лечения в гастроэнтерологическое отделение ГБУЗ СК «СККБ».

Другие заболевания – только простудные. На вопрос о приеме алкоголя в предыдущие годы отвечает «как все».

Объективно: Общее состояние средней тяжести. Сознание ясное. Тест связи чисел 55 сек. Кожные покровы и склеры интенсивно желтушны. На коже в области декольте и плечевого пояса единичные телеангиэктазии. ИМТ – 28,5. Голени и стопы не отечны. Щитовидная железа не увеличена. Периферические лимфоузлы не увеличены. Аускультативно над легкими везикулярное дыхание. ЧДД – 17 в 1 мин. Тоны сердца ритмичные, слегка приглушенные. АД на 125/65 мм рт. ст. Пульс 88 в 1 минуту. Язык влажный, обложен желтоватым налетом. Живот увеличен в объеме из-за асцита, при пальпации во всех отделах безболезненный. В отлогих местах в положении лежа притупление перкуторного звука. Размеры печени: 15 × 12 × 10 см. Из-под реберной дуги на 5 см выступает плотный и бугристый край печени, Селезенка плохо прощупывается из-за асцита. Симптом поколачивания по поясничной области отрицательный с обеих сторон. Стул ежедневный, оформленный, мочеиспускание свободное и безболезненное.

Данные лабораторно-инструментальных исследований.

Общий анализ крови: HGB – 106 г/л; RBC – $2,36 \times 10^{12}$ /л; MCV – 106,6 fl, MCH – 36,9 pg; PLT – 112×10^9 /л; WBC – $9,5 \times 10^9$ /л; эоз. 0%; п.я. 1%; с.я. 86%; мон. 4 %; лимф. 9%; анизоцитоз ++, пойкилоцитоз ++, макроциты ++; СОЭ 24 мм/ч.

В анализе мочи: уробилин 4,0 мг/дл, в остальном – без патологии.

Биохимия крови: общий билирубин 190,3 мкмоль/л, прямой билирубин 111,3 мкмоль/л, АлАТ 66,8 Ед/л, АсАТ 73,5 Ед/л, ЩФ 226 Ед/л, ГГТ 108 Ед/л, общий белок 72 г/л, альбумин 26,9 г/л, мочевины 6,47 ммоль/л, креатинин 79 мкмоль/л. Глюкоза 4,4 ммоль/л. Общий холестерин 2,6 ммоль/л, триглицериды 0,9 ммоль/л. Натрий – 133,2 ммоль/л. С-реактивный белок 22,6 мг/л. ПВ – 29,2 сек, ПТИ 40%, АЧТВ 36,4 сек, фибриноген 1,08 г/л, МНО – 2,73. α -фетопротеин 2,2 МЕ/мл.

Иммунологическое исследование: маркеры аутоиммунной патологии (ANA, AMA-M2, anti-LKM, SMA) не обнаружены. Маркеры HBV и HCV – отрицательные.

УЗИ органов брюшной полости. Эхолокация затруднена из-за асцита и метеоризма. Правая доля печени – толщина 146 мм, КВР – 175 мм, левая доля – ККР 110 мм, хвостатая доля – 31 мм. Контуры ровные. Капсула печени дифференцируется. Диаметр vena portae 14 мм, vena lienalis 9 мм, печеночных вен – 7 мм. На всем протяжении неоднородность паренхимы, лоцируются участки пониженной и повышенной эхогенности. Звукопроводимость средняя. Внутривенные желчные протоки не расширены, общий желчный проток 4 мм. Типичное расположение желчного пузыря, размерами 64 × 25 мм, имеется фиксированный перегиб в шеечном отделе. Стенки пузыря – 3 мм, повышенной эхогенности. В полости пузыря лоцируется эховзвесь и мелкие конкременты. Поджелудочная железа визуализируется фрагментами, головка – 30 мм, тело – 25 мм, хвост не визуализируется (наложение петель кишечника). Панкреатическая паренхима диффузно неоднородной эхоструктуры, эхогенность повышена. Размеры селезенки 151 × 51 × 97 мм, эхоструктура

паренхимы однородная, обычной эхогенности. Свободная жидкость лоцируется во всех отделах брюшной полости в значительных количествах.

Заключение: Гепатомегалия. Выраженные признаки портальной гипертензии. Хронический калькулезный холецистит. Изменения видимых отделов поджелудочной железы. Спленомегалия. Асцит.

ЭГДС: Пищевод свободно проходим, слизистая его розовая. В средней и нижней трети пищевода определяются спавшиеся извитые венозные стволы. Розетка кардии смыкается полностью. При инверсии кардия охватывает аппарат недостаточно плотно. В желудке большое количество темно-зеленой застойной жидкости. Стенки желудка эластичные, складки продольно-извитые, средней величины. Видимая перистальтика активная. Слизистая желудка полнокровна, контактная ранимость, рыхлая, гиперемированная. Привратник нормально смыкается. Луковица двенадцатиперстной кишки правильной формы, гиперемия слизистой. Тест на наличие *Helicobacter pylori* отрицательный.

Заключение: Варикозное расширение вен пищевода I степени. Поверхностный гастродуоденит.

МСКТ: Признаки цирроза печени, расширения вен портальной системы с развитыми анастомозами, характерными для цирроза печени, гепатоспленомегалии, асцита, стеатогепатоза, холецистолитиаза, хронического панкреатита, внутрибрюшной лимфаденопатии.

Клинический диагноз: *Основное заболевание:* Цирроз печени, алкогольной этиологии. Класс С по Чайлд-Пью (13 баллов). Алкогольный гепатит, тяжелое течение. Индекс Мэддрей – 85,6. *Осложнения:* Портальная гипертензия декомпенсированная – гепато-спленомегалия, асцит, варикозное расширение вен пищевода I ст. Печеночная энцефалопатия 1 ст. Гиперспленизм – тромбоцитопения. *Сопутствующие заболевания:* ЖКБ: хронический калькулезный холецистит, вне обострения. Хронический панкреатит, вне обострения. Хронический гастрит.

Собственные исследования: Содержание в крови PIIIIP – 19,0 нг/мл. Генотипы алкоголь-метаболизирующих ферментов: *ADH1B* – *1/*1, *CYP2E1* – c1/c2. Анкета по шкале CAGE – 4 балла. Анкета по шкале AUDIT – 16 балла.

Проводимое лечение: верошпирон, фуросемид, лактулоза, преднизолон 40 мг/сут, урсосан, введение 20% раствора альбумина внутривенно капельно, аминостерил внутривенно капельно.

На момент выписки 31.01.2019 г. самочувствие пациентки улучшилось (уменьшился значительно асцит, исчезли отеки), отмечалась положительная динамика анализов – снизился билирубин, повысились показатели альбумина и протромбина. Выписана для продолжения лечения в стационаре по месту жительства. При выписке принимала преднизолон 25 мг/сут. Были даны указания по снижению дозы преднизолона и приему других препаратов. Однако пациентка умерла 29.03.2019 г.

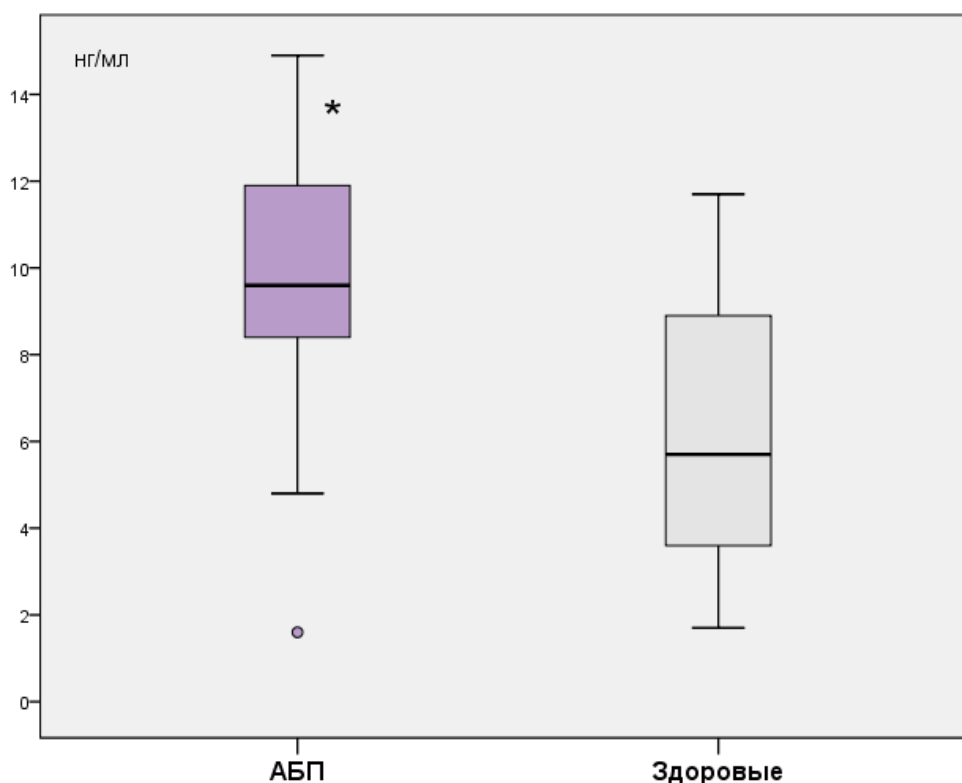
Данный клинический пример демонстрирует, что при тяжелом алкогольном гепатите с индекса Мэддрей выше 32 на фоне декомпенсированного цирроза печени алкогольной этиологии у пациентки было имеется присутствие минорного аллеля цитохрома 2E1 c2.

Таким образом, мы выявили, что при АГ гетерозиготный генотип c1/c2 и минорный аллель c2 гена *CYP2E1* наблюдались чаще, чем у здоровых лиц. Тенденция к более высоким показателям полиморфизма при значениях MDF более 32 оказалась статистически незначимой. При циррозе печени алкогольной этиологии чаще наличие полиморфизма и мутантного аллеля *CYP2E1* находили при ЦП класса В по Чайлд-Пью относительно пациентов класса А.

ГЛАВА 4. СЫВОРОТОЧНЫЙ МАРКЕР ФИБРОЗА PIIINP У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ (СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)

4.1. Содержание PIIINP в крови пациентов с алкогольной болезнью печени

У всех включенных в исследование пациентов определяли содержание в крови PIIINP. У пациентов с АБП было отмечено повышение в крови уровней PIIINP – 10,8 (8,4 – 14,5) нг/мл относительно лиц группы контроля – 5,7 (3,6 – 8,9) нг/мл (рисунок 11).



Примечание: * - $p = 0,0000006$, использовался U-критерий Манна-Уитни.

Рисунок 11 – Содержание PIIINP в крови пациентов с АБП и здоровых лиц

При этом следует отметить, что содержание в плазме изучаемого маркера фиброза значительно различалось в разных группах пациентов. У больных алкогольным стеатозом концентрация PIIINP в крови возрастала в меньшей степени сравнительно с остальными группами АБП, превышая, тем не менее, нормальные значения (таблица 16). Здесь нужно отметить, что в группе со

стеатозом печени показатели печеночной плотности, определяемые эластометрией, не были более уровней фиброза F 0-1 по METAVIR.

Таблица 16 – Содержание РШНР в крови пациентов с различными клиническими вариантами АБП (Ме (Q1- Q3))

Группы обследуемых	n	РШНР (нг/мл)	p
Стеатоз	12	7,5 (5,6 – 10,6)	0,037
АГ	11	16 (12,1 – 16,7)	0,000004
ЦП	58	9,8 (7,5 – 12,4)	0,000038
ЦП / АГ	16	16,5 (15,1 – 17,8)	0,00000025
Здоровые лица	22	5,7 (3,6 – 8,9)	-

Примечание: p – статистическая значимость относительно группы здоровых лиц, использовался U-критерий Манна-Уитни.

У пациентов с алкогольным ЦП концентрация РШНР в крови превышала подобные показатели участников исследования со стеатозом печени ($p=0,034$), что могло отражать усиление фиброза и прогрессирование печеночной патологии.

В группе пациентов с АГ были зафиксированы наибольшие значения РШНР, что значительно превышало как подобные показатели контрольной группы, так и уровни больных с алкогольным стеатозом и ЦП. При этом, поскольку уровни РШНР у пациентов с АГ без цирроза и у пациентов с АГ на фоне сформированного ЦП не демонстрировали существенных различий ($p=0,11$), обе эти группы были объединены для дальнейшего анализа под общим обозначением – группа АГ + ЦП / АГ (27 чел.).

Мы провели анализ содержания РШНР в крови в зависимости от половой принадлежности пациентов (таблица 17). Однако, учитывая клиническую разнородность обследованных пациентов и значительную разницу в показателях РШНР между группами, анализ проводился внутри каждой группы. Группы АГ и АГ на фоне сформированного цирроза печени (ЦП/АГ) мы объединили, так как разницы в сывороточной концентрации РШНР между

этими группами не было, а в группе с АГ было всего 3 женщины. Пол пациентов не оказал статистически значимого влияния на результаты во всех исследуемых группах.

Таблица 17 – Содержание РШНР в крови пациентов с АБП в зависимости от пола пациентов (Me (Q1- Q3))

Группы пациентов	РШНР (нг/мл)		p
	мужчины	женщины	
Стеатоз	6,6 (5,5 – 6,6) n=7	8,7 (6,2 – 7,9) n=5	0,34
АГ + ЦП /АГ	15,9 (14,3 – 17,6) n=20	16,7 (16,0 – 16,7) n=7	0,29
ЦП	9,8 (8,4 – 12,4) n=40	9,1 (6,9 – 13,1) n=18	0,24

Примечание: p – статистическая значимость различий между мужчинами и женщинами, использовался U-критерий Манна-Уитни.

Проведен аналогичный анализ зависимости содержания РШНР в сыворотке крови больных АБП от возраста пациентов. В этом случае мы также анализировали изучаемый показатель в разных клинических группах пациентов (таблица 18). В группе пациентов с алкогольным стеатозом мы не смогли проанализировать зависимость изучаемого показателя от возраста, так как здесь преобладали пациенты II периода зрелости, а больных I периода зрелости и пожилого возраста было всего по 2 человека. У пациентов с алкогольным гепатитом мы сравнили сывороточные уровни РШНР у больных I и II периодов зрелости, но различий установить не удалось – $p = 0,19$. Пожилых пациентов в этой подгруппе было всего 2 человека, и их данные не участвовали в сравнительном анализе. При алкогольном ЦП не было разницы в концентрации в крови РШНР у пациентов 2 периода зрелости и пожилого возраста – $p = 0,24$. В этой группе был всего 1 больной I периода зрелости.

Таблица 18 – Содержание РШНР в крови пациентов с АБП в зависимости от возраста пациентов (Me (Q1- Q3))

Группы пациентов	РШНР (нг/мл)		
	I период зрелости	II период зрелости	Пожилой возраст
Стеатоз	N/A n=2	7,25 (5,6 – 9,9) n=8	N/A n=2
АГ + ЦП /АГ	17,0 (15,3 – 18,4) n=4	16,0 (14,4 – 18,4) n=21	NA n=2
ЦП	N/A n=1	9,5 (7,5 – 12,1) n=42	9,8 (7,0 – 10,3) n=15

Таким образом, мы установили повышение плазменного содержания РШНР у пациентов с АБП. Максимальные значения изучаемого биомаркера фиброза были выявлены у пациентов с АГ и циррозом печени. Наименьшее повышение РШНР наблюдалось при стеатозе печени, а у пациентов с АГ, как на фоне цирроза, так и без него, показатели РШНР были сопоставимы. Возраст и пол пациентов не оказывали влияния на концентрацию РШНР в крови.

4.2. Содержание РШНР в крови пациентов со стеатозом печени алкогольной этиологии.

Из всех пациентов с АБП у пациентов со стеатозом изучаемый нами показатель фиброза был повышен в меньшей степени. Тем не менее, мы проанализировали наличие возможных взаимосвязей между изучаемым показателем фиброза и биохимическими параметрами данной группы пациентов. Был проведен корреляционный анализ, полученные данные представлены в таблице 19. Из данных таблицы следует, что корреляционных связей между сывороточным содержанием РШНР и основными биохимическими параметрами патологии печени при стеатозе мы не выявили. Здесь следует отметить, что уровень билирубина в этой категории пациентов составил $12,7 \pm 2,9$ мкмоль/л, что не превышало практически нормальных

значений. Только у 7 человек цитолитические ферменты были повышены, но не превышали 1,5 норм. В этой группе не было больных с синдромом гепатоцеллюлярной недостаточности, а также с синдромом холестаза.

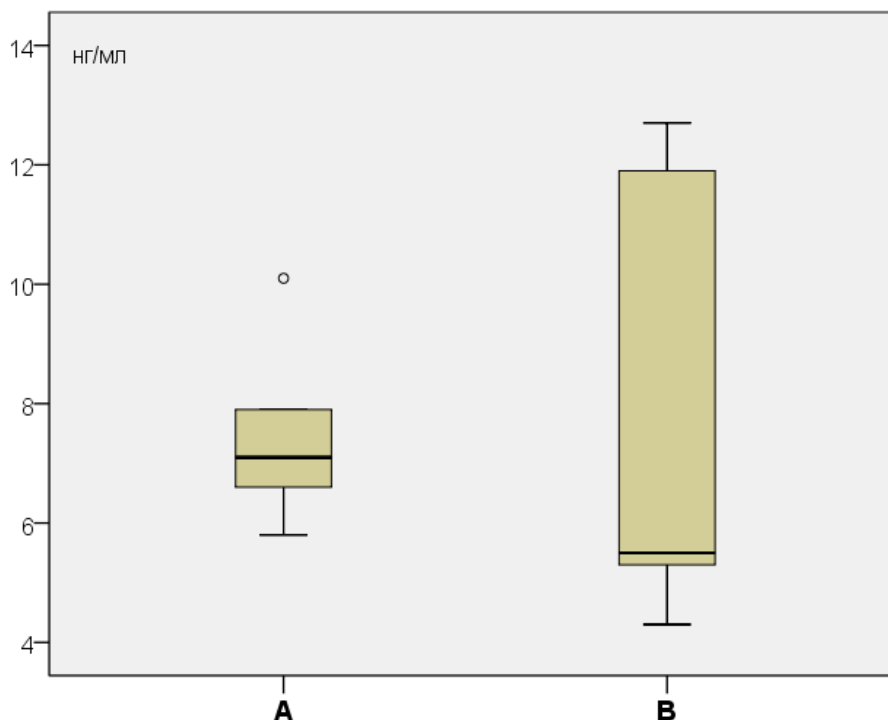
Таблица 19 – Показатели коэффициента корреляции между содержанием РШНР и биохимическими показателями у больных с алкогольным стеатозом печени

Биохимический показатель	r_s
Билирубин	0,15
АлАТ	0,19
АсАТ	0,2
ЩФ	0,12
ГГТ	0,19
Альбумин	-0,15

Был проведен анализ содержания РШНР в крови пациентов с алкогольным стеатозом печени в зависимости от значений неинвазивного индекса фиброза FIB-4 (рисунок 12). Известно, что пациенты с значениями индекса до 1,45 имеют фиброз уровня F0-2 по шкале METAVIR. Показатели FIB-4 от 1,45 до 3,25 относятся к «серой» зоне. Для этого мы разделили пациентов на 2 подгруппы: А – с показателем FIB-4 более 1,45 и В – со значением этого индекса менее 1,45. В подгруппе А оказалось 7 пациентов, но у них FIB-4 не достигал уровня 3,25, после которого вероятность продвинутого фиброза FIB-4 очень высока. Содержание РШНР в крови в подгруппе А оказалось равным 7,9 (6,6 – 7,9) нг/мл, а в группе В – 5,5 (4,8 – 5,4) нг/мл. Разница оказалась статистически не значима, хотя имелась тенденция к более высоким уровням РШНР у пациентов так называемой «серой зоны».

В этой группе пациентов проведение эластометрии выявило у 4-х пациентов уровень фиброза F0 (отсутствие фиброза) и у 8 чел. – F1. Плазменное содержание РШНР у пациентов с фиброзом F0 была равна 7,25

(5,45 – 9,9) нг/мл, а при фиброзе F1 – 8,7 (5,5 – 8,7) нг/мл. Различий между этими показателями не было, $p = 0,26$.



Примечание: А – FIB-4 > 1,45 и В – FIB-4 < 1,45.

Рисунок 12 – Содержание PIIINP в крови пациентов с алкогольным стеатозом печени в зависимости от значений показателя FIB-4

Таким образом, мы установили, что у пациентов со стеатозом печени алкогольной этиологии уровень PIIINP превышал показатели здоровых лиц. Не было выявлено корреляционных зависимостей при стеатозе содержания биомаркера фиброза и основных биохимических параметров. Показатели PIIINP не различались при уровнях фиброза F0 и F1, но имели статистически незначимую тенденцию к повышению при значениях неинвазивного индекса фиброза FIB-4 более 1,45.

4.3. Содержание РШНР в крови пациентов с алкогольным гепатитом

Содержание РШНР в сыворотке крови пациентов в группах АГ и ЦП / АГ значительно превышало показатели группы контроля, но между собой не различалось. Мы сочли целесообразным далее этих пациентов (27 чел.) анализировать как объединенную группу, в которой концентрация РШНР составила 16,0 (14,4 – 17,1) нг/мл; $p = 0,0000002$. Это значение превышало показатели группы стеатоза ($p = 0,0000018$), а также аналогичный параметр группы с ЦП – $p = 0,000027$.

Между изучаемым показателем фиброза и показателями активности цитолиза у данной группы пациентов. Был проведен корреляционный анализ, полученные данные представлены в таблице 20.

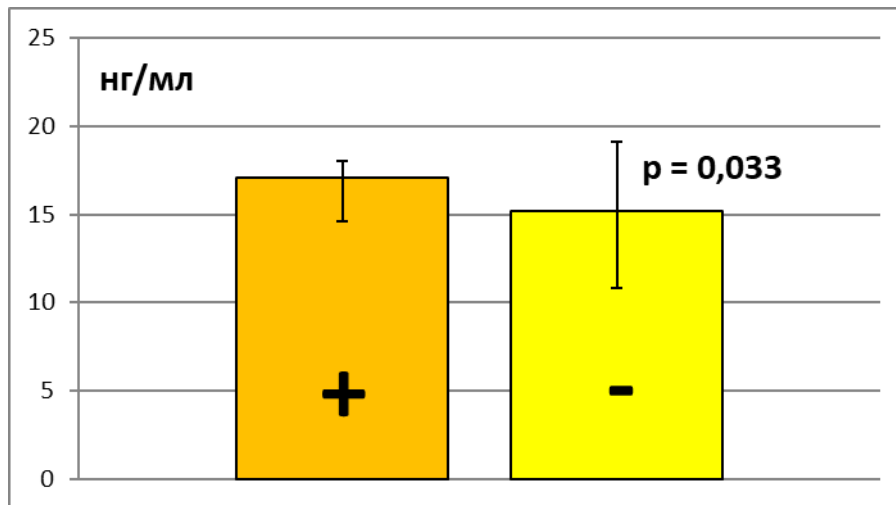
Таблица 20 – Показатели коэффициента корреляции между содержанием РШНР и активностью цитолитических ферментов у больных с алкогольным гепатитом

Биохимический показатель	r_s	p
АлАТ	0,29	0,12
АсАТ	0,49	0,008
ГГТ	0,38	0,046

Мы обнаружили прямую корреляционную зависимость между содержанием в крови РШНР и уровнем АсАТ, а предполагаемая связь между изучаемым показателем фиброза и активностью АлАТ оказалась незначимой. Кроме того, концентрация РШНР положительно коррелировала с активностью ГГТ.

Холестатический синдром (повышение билирубина, холестерина, активности ЩФ) отмечался у 17 пациентов с АГ. У этих пациентов уровень РШНР оказался равным 17,1 (15,1 – 17,55) нг/мл, а у пациентов без холестатического синдрома ($n = 10$) – 15,2 (12,1 – 16,7) нг/мл, $p = 0,033$.

Полученные данные представлены на рисунке 13. Здесь следует отметить, что холестатический синдром отмечался у наиболее тяжелых пациентов.



Примечание: использовался U-критерий Манна-Уитни.

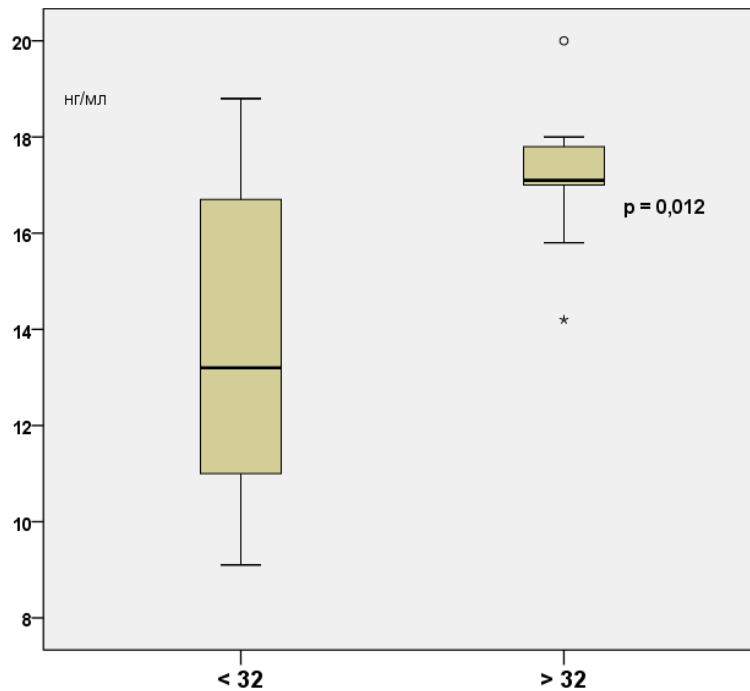
Рисунок 13 – Содержание PIIINP в крови пациентов с алкогольным гепатитом в зависимости от наличия (+) или отсутствия (-) синдрома холестаза. График медиан с доверительными интервалами

У всех пациентов с АГ отмечалось наличие клинических и лабораторных признаков гепатоцеллюлярной недостаточности и компоненты мезенхимально-воспалительного синдрома. Поэтому для анализа уровня PIIINP и тяжести АГ мы использовали интегративный индекс Мэддрей (Maddrey discriminant function – MDF). Этот вычисляемый показатель является дискриминантной функцией. В клинической практике применение этого индекса широко распространено. Доказано, что тяжесть алкогольного гепатита и прогнозирование его исхода с применением MDF надежно и информативно. Было изучена плазменная концентрация PIIINP при АГ в зависимости от значения индекса MDF. Известно, что при значении $MDF \geq 32$, риск летального исхода в течение ближайшего месяца, при отсутствии адекватного лечения, составляет от 35% до 50%. [84, 91].

У 9 пациентов с АГ тяжелого течения индекс Мэддрей имел значение более 32, а у 18 больных значения MDF были <32 . Было выяснено, что у лиц с показателем $MDF > 32$ уровень PIIINP был выше, чем у остальных 18 пациентов

– соответственно 17,1 (16,4 – 17,4) нг/мл и 15,1 (12,1 – 16,7) нг/мл ($p = 0,012$).

Полученные данные представлены на рисунке 14.



Примечание: использовался U-критерий Манна-Уитни.

Рисунок 14 – Содержание PIIIP у пациентов с алкогольным гепатитом в зависимости от значения индекса Мэддрей

Учитывая ассоциацию высоких уровней PIIIP с наиболее тяжелым течением АГ, мы проанализировали прогностическое значение данного биомаркера фиброза для неблагоприятных исходов заболевания. Последующее наблюдение за судьбой пациентов показало, что всего из группы с АГ умерло 11 чел. (40,7%). Из них у 7 пациентов АГ развивался на фоне ЦП, а у 4-х человек не было признаков цирроза. Двое больных умерло в течение трех месяцев, 7 чел. – в течение года, а еще 2 пациента (без фонового заболевания в виде сформировавшегося цирроза) прожили около двух лет. Методом ROC-анализа мы высчитали плазменный уровень PIIIP, который можно было считать пороговым, а большие значения биомаркера можно было считать неблагоприятным для прогноза. Этот порог концентрации в крови PIIIP составил 17,0 нг/мл (рисунок 15). Значение AUC составило 0,73.

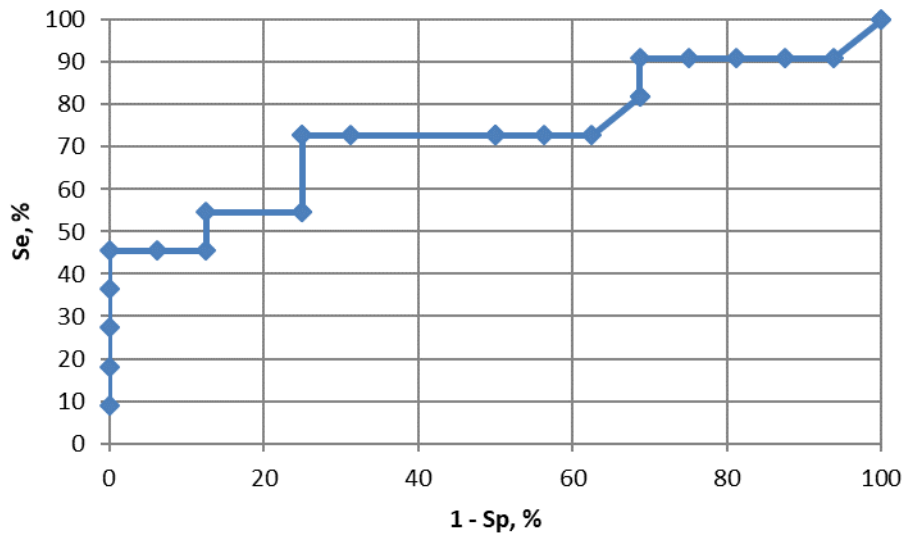


Рисунок 15 – ROC-кривая для порогового уровня РИИПР $\geq 17,0$ нг/мл, являющегося предиктором неблагоприятного течения алкогольного гепатита

Прогностическая значимость вычисленного порогового содержания РИИПР в крови больных АГ представлена в данных таблице 21. При этом отношение шансов составило 8,0 (1,4 - 45,7).

Таблица 21 – Прогностическая значимость уровней РИИПР в крови больных алкогольным гепатитом для прогнозирования неблагоприятного исхода

Пороговый уровень	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	Ac (%)
РИИПР $\geq 17,0$ нг/мл	72,7	75,0	66,6	80,0	74,0

Далее следует иллюстрировать полученные данные выпиской из истории болезни.

Клинический пример 2.

Больной Л.А.А., 1978 г.р., житель КЧР, предприниматель. ИРК № 15.

Поступил в гастроэнтерологическое отделение 28.05.2018 г. ГБУЗ СК «СККБ».

Предъявлял **жалобы** на вздутие и урчание в животе, общую слабость, снижение аппетита, повышенную утомляемость, нарушение сна – сонливость днем и бессонницу ночью.

Из **анамнеза** известно, что последние 5 лет злоупотребляет алкоголем. Принимал крепкие напитки (водка, коньяк) практически ежедневно по 200 мл после ужина. Но, со слов родственников, были эпизоды запоев по 2-3 недели 1-2 раза в год, чаще после праздников. Вышеуказанные жалобы появились в последние 2 года. Лечился в стационаре по месту жительства в 2017 г. по поводу «хронического панкреатита». В сентябре 2017 г. впервые был эпизод увеличения живота, диагностирован асцит, синдром портальной гипертензии. От госпитализации отказался, лечился амбулаторно – принимал мочегонные, бициклол, вводился капельно раствор 20% альбумина. Асцит исчез, самочувствие улучшилось. Абстиненция до конца февраля 2018 г. Далее после неприятностей с работой вновь стал принимать алкоголь по 1-1,5 бутылке крепких напитков в день. За медицинской помощью обращаться отказывался. В мае 2018 г. появились вышеуказанные жалобы. Предпринимались попытки самостоятельного приема мочегонных и гепатопротекторов, однако состояние ухудшалось. По настоянию родственников доставлен для стационарного лечения в гастроэнтерологическое отделение ГБУЗ СК «СККБ».

Других заболеваний не отмечает. Туберкулез, венерические заболевания, вирусные гепатиты отрицает. Женат, имеет двоих детей.

Объективно: Общее состояние средней тяжести. Сознание ясное, однако на вопросы отвечает несколько замедленно. Тест связи чисел 65 сек. Кожные покровы и склеры желтушной окраски. Большое количество телеангиэктазий разного калибра на коже в области декольте и плеч. Эритема ладоней. ИМТ – 22,5. Периферических отеков нет. Щитовидная железа не увеличена. Пальпируемые лимфоузлы не увеличены. Над легкими выслушивается везикулярное дыхание. Тоны сердца ритмичные, слегка приглушенные. АД 140/70 мм рт. ст. Пульс 98 в 1 минуту. Язык влажный, обложен желтоватым налетом. Живот вздут, при пальпации во всех отделах безболезненный. В

положении лежа притупление звука перкуссии в отлогах местах. Размеры печени: $13 \times 11 \times 9$ см. Нижний край печени выступает из-под реберной дуги на 3 см, плотный. Пальпируется нижний полюс селезенки. Стул и мочеиспускание без особенностей.

Данные лабораторно-инструментальных исследований: Общий анализ крови: HGB – 119 г/л; RBC – $3,76 \times 10^{12}$ /л; MCV – 90,3 fl, MCH – 31,8 pg; PLT – 56×10^9 /л; WBC – $10,9 \times 10^9$ /л; эоз. 0%; миелоциты 1%, п.я. 3%; с.я. 71%; мон. 4%; лимф. 21%; СОЭ 29 мм/ч. Общий анализ мочи: уд.вес – 1,021, уробилин – (+), в остальном без патологии. Биохимия: общий билирубин 104,2 мкмоль/л, прямой билирубин 68,6 мкмоль/л, АлАТ 32,4 Ед/л, АсАТ 197,2 Ед/л, ЩФ 405 Ед/л, ГГТ 1156 Ед/л, общий белок 74,5 г/л, альбумин 33,2 г/л, мочевины 3,15 ммоль/л, креатинин 57 мкмоль/л. Глюкоза 6,05 ммоль/л. Общий холестерин 4,49 ммоль/л, ЛПНП 1,44 ммоль/л, ЛПВП 1,9 ммоль/л, триглицериды 0,89 ммоль/л. С-реактивный белок 7,5 мг/л. ПВ – 16 сек, ПТИ 69%, АЧТВ 31,4 сек, фибриноген 2,3 г/л. α -фетопротеин 1,2 МЕ/мл.

Иммунологическое исследование: ANA, AMA-M2, anti-LKM, SMA не обнаружены. Маркеры HBV и HCV – инфекций не выявлены.

УЗИ органов брюшной полости. Правая доля печени 175 мм, левая доля печени 97 мм. Контуры ровные. Передний край печени закруглен. Эхоструктура паренхимы - выраженные диффузные изменения. Эхогенность – повышена неравномерно, звукопроводимость - понижена. Сосудистый рисунок паренхимы оценить невозможно. Внутрипеченочные желчные протоки не расширены. В воротах печени и близко к желчному пузырю множественные извитые сосудистые структуры – коллатерали. Диаметр портальной вены 15 мм, селезеночной вены 8 мм. Холедох - 6 мм. Желчный пузырь расположен обычно, деформирован. Размеры пузыря 127×34 мм. Стенки желчного пузыря толщиной 3-4 мм. Содержимое – мелкодисперсная взвесь. Поджелудочная железа: головка 28 мм, тело 17 мм, хвост лоцируется с трудом. Контуры неровные, нечеткие. Эхогенность – повышена неравномерно. Селезенка: размерами 160×59 мм, контуры ровные, эхоструктура однородная,

эхогенность средняя. Свободная жидкость в брюшной полости в нижних отделах и межпетельно тонкими полосками. Эластометрия печени – 19,1 кПа.

ЭГДС: Слизистая пищевода розовая, эластичная, свободно проходима. Начиная со средней трети, определяются варикозно-трансформированные вены до 0,6 см, при инсуффляции полностью не спадаются. Розетка кардии смыкается полностью. При инверсии кардия охватывает аппарат плотно. Желудок натощак содержит большое количество мутной зеленоватой жидкости с примесью желчи. При инсуффляции стенки желудка плохо расправляются, складки продольно-извитые, утолщенные. Перистальтика активная, слизистая желудка во всех отделах отечна, гиперемирована. Привратник правильной формы, проходим, отмечается заброс желчи. Луковица двенадцатиперстной кишки правильной формы, слизистая розовая, блестящая. Постбульбарный отдел без особенностей. На стенках небольшое количество соломенного цвета желчи. Уреазный тест отрицательный. Заключение: Варикозное расширение вен пищевода II степени. Поверхностный гастрит. Дуодено-гастральный рефлюкс.

Клинический диагноз: *Основное заболевание:* Цирроз печени, алкогольной этиологии. Класс С по Чайлд-Пью (11 баллов). Алкогольный гепатит, тяжелое течение. Индекс Мэддрей – 29,08. *Осложнения:* Портальная гипертензия декомпенсированная – гепато-спленомегалия, асцит, варикозное расширение вен пищевода II ст. Гиперспленизм – тромбоцитопения. Печеночная энцефалопатия 1 ст. *Сопутствующие заболевания:* Хронический панкреатит, алкогольной этиологии.

Собственные исследования: Содержание в крови PIIINP – 20,0 нг/мл. Генотипы алкоголь-метаболизирующих ферментов: *ADH1B* – *1/*2, *CYP2E1* – c1/c2. Анкета по шкале CAGE – 4 балла. Анкета по шкале AUDIT – 22 балла.

Проводимое лечение: верошпирон, лактулоза, рифаксимин, урсосан, введение 20% раствора альбумина внутривенно капельно.

Через 10 дней самочувствие пациента улучшилось (уменьшились слабость, вздутие живота, нормализовался сон). При этом по данным

лабораторных анализов сохранялись гипербилирубинемия, снижение билирубина и ПТИ, а по данным УЗИ – свободная жидкость в животе. По настоянию пациента выписан на амбулаторное лечение по месту жительства. Через месяц после выписки родственники сообщили о смерти пациента.

Данный клинический пример демонстрирует, что при наличии индекса Мэддрей ниже 32 у пациента сохранялась высокая вероятность неблагоприятного исхода, на что указывало высокое содержание в крови РШНР. Кроме того, у него было определено оба гетерозиготных генотипа с наличием минорных аллелей.

Таким образом, при алкогольном гепатите содержание РШНР в крови пациентов значительно повышено и находилось в прямой зависимости с активностью АсАТ и ГГТ. Наиболее высокие уровни отмечались при наличии холестатического синдрома и значениях индекса Мэддрей более 32. Концентрация РШНР в сыворотке крови более 17 нг/мл может служить предиктором неблагоприятного (летального) исхода.

4.4. Содержание РШНР в крови пациентов с алкогольным циррозом печени

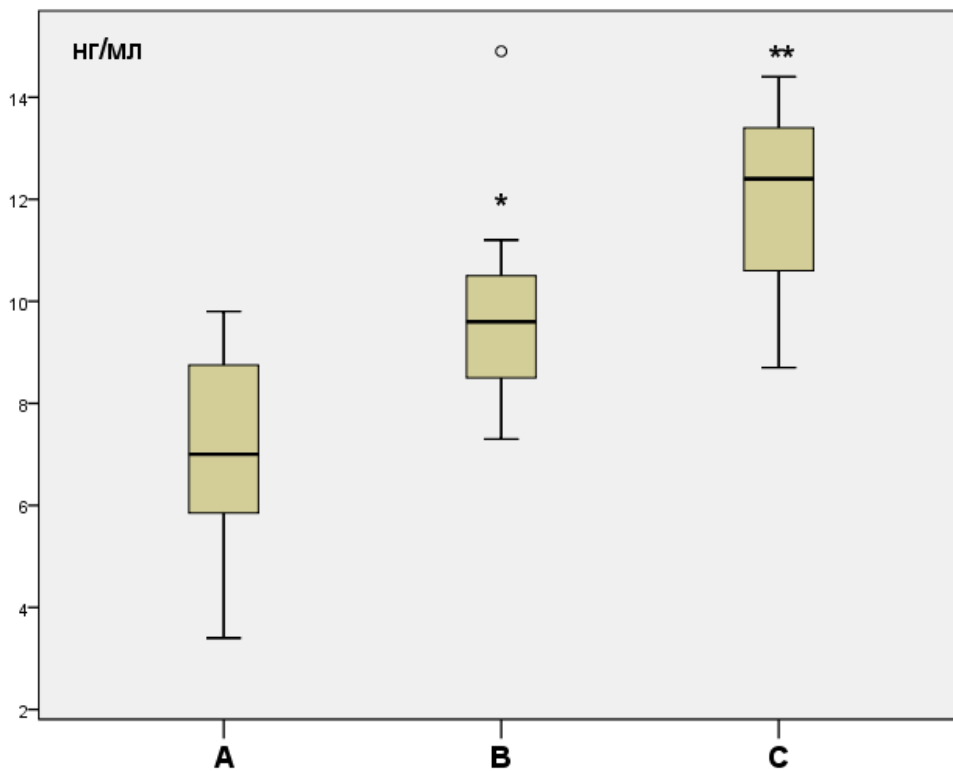
Возраст пациентов в группе с ЦП составил $49,6 \pm 9,3$ лет, женщин было 18, мужчин 40. Класс А по шкале Чайлд-Пью был диагностирован у 11 чел., класс В – у 26 чел., а класс С – у 21 пациентов.

Из данных таблицы 22 следует, что при циррозе печени имелась положительная корреляция исследуемого биомаркера фиброза и активностью АсАТ, как и в случаях с алкогольным гепатитом. Это характеризовало взаимосвязь активности цитолиза с продолжающимся неколлагеногенезом в ткани печени. При этом в данной группе взаимосвязь с активностью ГГТ была статистически незначимой.

Таблица 22 – Показатели коэффициента корреляции между содержанием РПНР и цитолитическими ферментами у больных с алкогольным циррозом печени

Биохимический показатель	r_s	p
АлАТ	0,24	0,19
АсАТ	0,41	0,035
ГГТ	0,29	0,078

Проведено исследование содержания РПНР в зависимости от тяжести цирроза печени, классифицированной по шкале Чайлд-Пью. В клинической практике принято определять тяжесть цирроза печени по интегративному показателю этой шкалы (рисунок 16).



Примечание: * - $p= 0,001$ по сравнению с классом А; ** - $p= 0,0001$ по сравнению с классом А, использовался U-критерий Манна-Уитни.

Рисунок 16 – Содержание РПНР у пациентов с алкогольным циррозом печени в зависимости от класса цирроза по шкале Чайлд-Пью

Было установлено, что концентрация PIIINP демонстрировала увеличение по мере прогрессирования цирроза печени, достигая следующих значений: класс А – 7,0 (5,4 – 7,0) нг/мл; класс В – 9,3 (10,4 – 12,4) нг/мл; класс С – 11,6 (8,1 – 12,95) нг/мл. В результате проведенного анализа также выявлено, что уровни данного биомаркера фиброза у пациентов с ЦП класса В статистически значимо превышали показатели пациентов с циррозом класса А ($p = 0,001$). Аналогично, у пациентов с циррозом класса С наблюдалось еще более выраженное повышение данного показателя по сравнению с классом А ($p = 0,0001$). Однако, при сравнении пациентов с циррозом классов В и С, статистически значимых различий в уровнях биомаркера фиброза выявлено не было ($p > 0,05$).

Полученные данные характеризует следующий клинический пример.

Клинический пример 3.

Больной В.С.С., 1979 г.р., (38 лет), житель Ставропольского края, не работает. ИРК № 07.

Поступил в гастроэнтерологическое отделение 15.08.2017 г. ГБУЗ СК «СККБ».

Жалобы: на увеличение в размерах живота, отеки ног, желтушность кожи, общую слабость, снижение аппетита, повышенную утомляемость, слабость. Также беспокоят боли в мышцах нижних конечностей. Считает себя заболевшим с мая 2017 г., когда появились боли в нижних конечностях. Впервые был госпитализирован в неврологическое отделение по месту жительства. Далее в стационаре появилась желтушность кожи и увеличился объем живота. Был переведен в терапевтическое отделение, где впервые был диагностирован цирроз печени. Проводилась инфузионная, диуретическая и гепатопротективная терапия. Выписан был со значительным улучшением. После выписки через 2 недели рецидив симптоматики: резко начал нарастать асцит, появились боли в животе. Амбулаторное лечение эффективности не

имело. Был направлен для уточнения диагноза и стационарного лечения в гастроэнтерологическое отделение ГБУЗ СК «СККБ».

Анамнез жизни: Других заболеваний не отмечает. Туберкулез, венерические заболевания, вирусные гепатиты отрицает. Ранее работал водителем, последние 2 года официально не работает. Со слов родственников ежедневно употребляет от 200 до 500 мл крепких напитков.

Объективно: Общее состояние средней тяжести. Сознание ясное, но слегка заторможен. Тест связи чисел 68 сек. Нормостеник, пониженного питания. Быстро нарастает слабость при перемещении в пределах отделения. Кожные покровы смуглые, желтушные, склеры иктеричные. На коже в области декольте и плечевого пояса телеангиэктазии. Температура тела 36,6⁰. Тургор кожи снижен. Периферических отеков нет. Щитовидная железа не увеличена. Периферические лимфоузлы не увеличены. Над легкими везикулярное дыхание, в нижних отделах ослабленное. ЧДД 16 в 1 минуту. Тоны сердца ритмичные, слегка приглушенные. АД 116/74 мм рт. ст. Пульс 96 в 1 минуту. Язык влажный, обложен желтоватым налетом. Живот значительно увеличен за счет асцита, умеренно болезненный во всех отделах. Нижний край печени перкуторно определяется на 3 см из-под реберной дуги, пальпации не доступен из-за асцита. Селезенка не пальпируется. Стул 1-2 раза в сутки, кашицеобразный. Мочевыделение без особенностей.

Данные лабораторно-инструментальных исследований: Общий анализ крови: HGB – 131 г/л; RBC – $4,8 \times 10^{12}$ /л; MCV – 97,5 fl, MCH – 33,2 pg; PLT – 135×10^9 /л; WBC – $7,0 \times 10^9$ /л; эоз. 2%; п.я. 5%; с.я. 60%; мон. 8 %; лимф. 25%; СОЭ 21 мм/ч. Общий анализ мочи: уд.вес – 1,015, уробилин – (+), в остальном без патологии. Биохимия: общий билирубин 53,7 мкмоль/л, прямой билирубин 25,1 мкмоль/л, АЛАТ 55,7 Ед/л, АсАТ 98,2 Ед/л, ЩФ 602 Ед/л, ГГТ 877 Ед/л, общий белок 70,3 г/л, альбумин 33,0 г/л, мочевины 4,25 ммоль/л, креатинин 71 мкмоль/л. Глюкоза 5,8 ммоль/л. Общий холестерин 7,0 ммоль/л, триглицериды 1,2 ммоль/л. С-реактивный белок 7,5 мг/л. ПВ – 13 сек, ПТИ 89%, фибриноген 3,02 г/л. α -фетопротеин 4,5 МЕ/мл.

Иммунологическое исследование: ANA, AMA-M2, anti-LKM, SMA не обнаружены. Маркеры HBV и HCV – инфекций не выявлены.

УЗИ органов брюшной полости. Правая доля печени 187 мм, левая доля печени 98 мм. Контуры неровные. Эхоструктура паренхимы диффузно неоднородна. Эхогенность повышена неравномерно, звукопроводимость понижена. Сосудистый рисунок обеднен. Внутривеночные желчные протоки не расширены, стенки сосудов и протоков уплотнены. В воротах печени и близко к желчному пузырю множественные извитые сосудистые структуры – коллатерали. Диаметр портальной вены 16 мм, селезеночной вены 8-9 мм. Холедох - 6 мм. Желчный пузырь расположен обычно. Размеры пузыря 71 × 26 мм. Стенки желчного пузыря толщиной 10-14 мм, утолщена, эхогенность стенки повышена. Содержимое – мелкодисперсная взвесь, желчи практически не содержит. Поджелудочная железа: лоцируется фрагментарно из-за плавающих петель кишечника. В видимых отделах: контуры неровные, эхоструктура неоднородная, эхогенность повышена. Селезенка увеличена: 134 × 59 мм, контуры неровные, эхоструктура диффузно неоднородная, эхогенность повышена. В брюшной полости большое количество свободной жидкости. Эластометрия печени – 24,2 кПа.

ЭГДС: Заключение: Варикозное расширение вен пищевода I-II степени. Желудок не осмотрен из-за выраженного рвотного рефлекса и беспокойного поведения пациента.

МСКТ. Заключение: признаки гепатоспленомегалии, стеатогепатоза, портальной гипертензии, асцита, лимфаденопатии в области ворот печени. ЖКБ: множественные мелкие конкременты в полости желчного пузыря.

Клинический диагноз: *Основное заболевание:* Цирроз печени алкогольной этиологии, с минимальной биохимической активности, класс С по Чайлд-Пью (11 баллов). *Осложнения:* Портальная гипертензия декомпенсированная – гепато-спленомегалия, отечно-асцитический синдром, варикозное расширение вен пищевода I-II ст. Гиперспленизм – тромбоцитопения. Печеночная энцефалопатия 1 ст. *Сопутствующие*

заболевания: Желчнокаменная болезнь: хронический калькулезный холецистит. Хронический панкреатит, алкогольной этиологии. Дисметаболическая полинейропатия нижних конечностей.

Собственные исследования: Содержание в крови PIII_{NP} – 13,7 нг/мл. Генотипы алкоголь-метаболизирующих ферментов: *ADH1B* – *1/*1, *CYP2E1* – c1/c2. Анкета по шкале CAGE – 3 балла. Анкета по шкале AUDIT – 19 баллов.

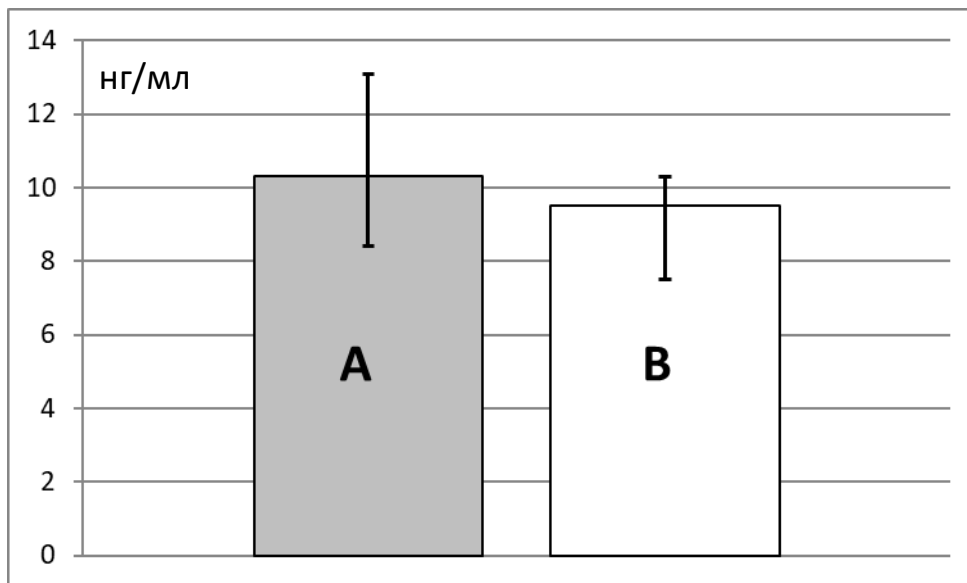
Проводимое лечение: верошпирон, диувер, лактулоза, фосфоглив, омепразол, панкреатические ферменты, введение 20% раствора альбумина внутривенно капельно, витамин B12, фолиевая кислота.

Через 2 недели стационарного лечения состояние пациента улучшилось – значительно уменьшился асцит, исчезли отеки на нижних конечностях, меньше выражена общая слабость. Выписан на амбулаторное лечение по месту жительства с дальнейшими рекомендациями по лечению. Далее пациент в нашу клинику не госпитализировался. Удалось выяснить, что больной умер 0.01.2019 г. в стационаре по месту жительства на фоне тяжелой декомпенсации цирроза печени.

Данный клинический пример демонстрирует, что при алкогольном циррозе класса С по Чайлд-Пью у пациента наблюдалось высокое содержание в крови PIII_{NP}, соответствующее вычисленным нами показателям, характерным для ЦП класса С. Кроме того, имелся гетерозиготный генотип *CYP2E1* – c1/c2, характерный для декомпенсированного ЦП.

В 2024 г. мы проанализировали выживаемость пациентов, включенных в исследование. С 2017 г. по 2024 г. умерло из группы ЦП 23 чел. (39,6%). Среди умерших 18 чел. (78,3%) на момент исследования имели класс С по Чайлд-Пью, а у 5 пациентов (21,7%) диагностировали класс В. Средняя продолжительность жизни пациентов с ЦП после момента их включения в протокол исследования составила $2,9 \pm 1,55$ лет. Был проведен анализ содержания в сыворотке крови PIII_{NP} у пациентов с ЦП в зависимости от выживаемости к 2024 г. На рисунке 17 продемонстрировано содержание PIII_{NP} у умерших и живых пациентов,

содержание в крови PIIINP соответственно: 10,3 (8,4 – 12,4) нг/мл и 9,5 (7,0 – 11,2) нг/мл; $p = 0,068$.



Примечание: А – умерли до 2024 года, В – живы в 2024 году.

Рисунок 17 – Содержание PIIINP в крови пациентов с алкогольным циррозом печени. График медиан с доверительными интервалами

Здесь мы видим, что уровень PIIINP у пациентов с алкогольным циррозом не смог быть предиктором выживаемости, а скорее отражал общую тяжесть заболевания, как и шкала Чайлд-Пью.

При анализе перспектив выживаемости пациентов с ЦП следует помнить, что даже при полной абстиненции и стабилизации печеночной функции сохраняется возможность развития ГЦР. Цирротически измененная печень имеет высокий пролиферативный потенциал и риск канцерогенеза очень высок. Мы вычислили риск развития ГЦР у 58 пациентов с ЦП, вошедших в наше исследование, так как эти данные могут стать основой онкологической настороженности и необходимости диспансерного наблюдения. Всем пациентам высчитывали 3-летний (R3) и 5-летний (R5) риски развития ГЦР с помощью онлайн-калькулятора «HCC risk calculator».

У пациентов с алкогольным циррозом риск развития ГЦР оказался достаточно высок и составил 4,5 (1,5 – 9) % в течение трех лет, а 5-летний риск

был еще выше – 7,5 (2,6 – 14,9)%. При этом распределения показателей рисков в зависимости от тяжести ЦП было различным. Вероятность развития ГЦР возрастала в зависимости от тяжести цирроза (таблица 23).

Таблица 23 – Риск развития гепатоцеллюлярного рака у больных алкогольным циррозом печени в течение 3-х и 5 лет

Класс ЦП по Чайлд-Пью	Риск развития ГЦР	
	R3	R5
A, n=11	2,3%	3,9%
B, n=26	2,8%	4,8%
C, n=21	7,9%	13,1%

Из данных таблицы 23 следует, что по мере прогрессирования цирроза от класса А к классу С по шкале Чайлд-Пью коэффициент R3 увеличивался. Показатель R5 также демонстрировал схожую тенденцию: его значения увеличивались пропорционально степени тяжести цирроза. У пациентов с ЦП классов А и В по Чайлд-Пью не было выявлено статистически значимых различий в риске развития гепатоцеллюлярного рака при оценке по показателям R3 и R5. Однако, наблюдалась существенная разница в риске ГЦР между пациентами с компенсированным циррозом класса А и пациентами с ЦП класса С по Чайлд-Пью, что подтверждается статистической значимостью для R3 ($p=0,0003$) и R5 ($p=0,0003$). Кроме того, была зафиксирована значимая разница в риске ГЦР (по показателю R5) между пациентами с ЦП классов В и С по Чайлд-Пью ($p=0,001$).

Мы проанализировали содержание РПНР в зависимости от риска развития ГЦР. Для этого мы вычислили коэффициент корреляции между показателями РПНР и значениями R3 и R5 соответственно (таблица 24).

Оказалась, что в случае R3 статистически значимой связи не было – $r_s = 0,21$. Однако при анализе связи с показателем R5 была обнаружена зависимость между значениями этого показателя и уровнем пептида РПНР в крови – $r_s =$

0,33; $p < 0,05$. Здесь надо заметить, что наиболее высокие показатели R5 отмечались у пациентов с тяжелым циррозом класса С по Чайлд-Пью, а у этих больных были и максимально высокие показатели фиброза в виде уровня PIIIP в крови.

Таблица 24 – Взаимосвязь между риском развития ГЦР и уровнем PIIIP у больных алкогольным циррозом печени в течение 3-х и 5 лет

Риск развития ГЦР	r_s
R3	0,21
R5	0,33

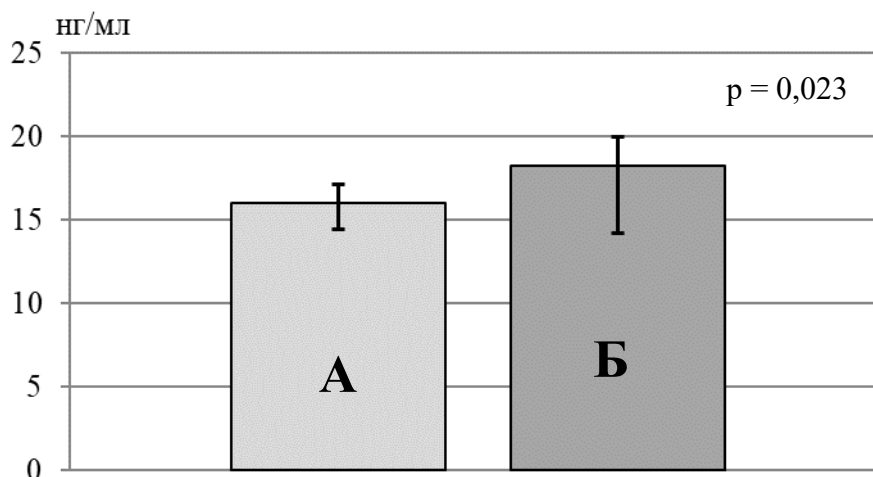
Таким образом, при алкогольном циррозе печени имеет место повышения содержания биомаркера фиброза PIIIP в крови больных, наиболее выраженное у пациентов с ЦП классов В и С по Чайлд-Пью. Концентрация в крови PIIIP напрямую зависела от активности АсАТ. Смертность у пациентов с алкогольным ЦП была высокой – 39,6% за последующие 7 лет, при этом уровень PIIIP не был бы предиктором выживаемости, хотя отражал общую тяжесть заболевания. Выяснено также, что у пациентов с алкогольным ЦП отмечается высокий риск развития ГЦР, который значительно увеличивается при нарастании тяжести цирроза. При этом 5-летний риск коррелировал с уровнем PIIIP в крови. Эти данные демонстрируют важность диспансерного наблюдения за больными алкогольным циррозом печени не только для мониторинга функции печени, но и с целью раннего выявления ГЦР.

4.5. Взаимосвязи содержание PIIIP в крови пациентов с алкогольной болезнью печени и наличием генетических полиморфизмов алкоголь-метаболизирующих ферментов

У пациентов с алкогольным стеатозом печени генотип *ADH1B* *1/*2 встречался только у двух пациентов из 12, поэтому мы не смогли изучить

разницу в уровне РШНР у пациентов с наличием и отсутствием минорного аллеля. Также мы и не анализировали данный серологический маркер фиброза у пациентов с генотипом, включающим минорный аллель *c2* гена *CYP2E1*, так как гетерозиготный генотип отмечался только у одного человека.

При алкогольном гепатите мы не смогли проанализировать содержание в крови РШНР в зависимости от присутствия гетерозиготного генотипа *ADH1B* *1/*2, так как он встречался среди пациентов этой группы только в двух случаях. При этом оказалось, что уровень данного маркера фиброза у пациентов с наличием неблагоприятного генотипа *CYP2E1* *c1/c2* был выше, чем у пациентов с гомозиготным генотипом *c1/c1* (рисунок 18).

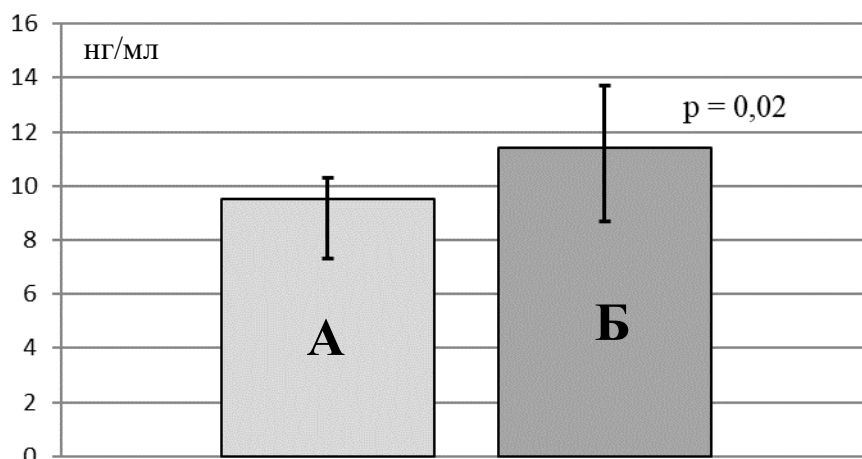


Примечание: А – *c1/c1*, Б – *c1/c2*, использовался U-критерий Манна-Уитни.

Рисунок 18 – Содержание РШНР в крови пациентов с алкогольным гепатитом в зависимости от генотипа *CYP2E1*. График медиан с доверительными интервалами

Аналогичный анализ зависимости плазменных уровней РШНР от генотипов алкоголь-метаболизирующих ферментов был проведен у пациентов с алкогольным ЦП. У пациентов с генотипом *ADH1B* *1/*2 (17 чел.) содержание в крови РШНР было выше, чем при генотипе *1/*1: соответственно 11,4 (9,6 – 13,1) нг/мл и 9,5 (7,0 – 11,9) нг/мл, $p = 0,02$ (рисунок 19). Здесь следует отметить, что среди пациентов с генотипом *1/*1 преобладали пациенты с

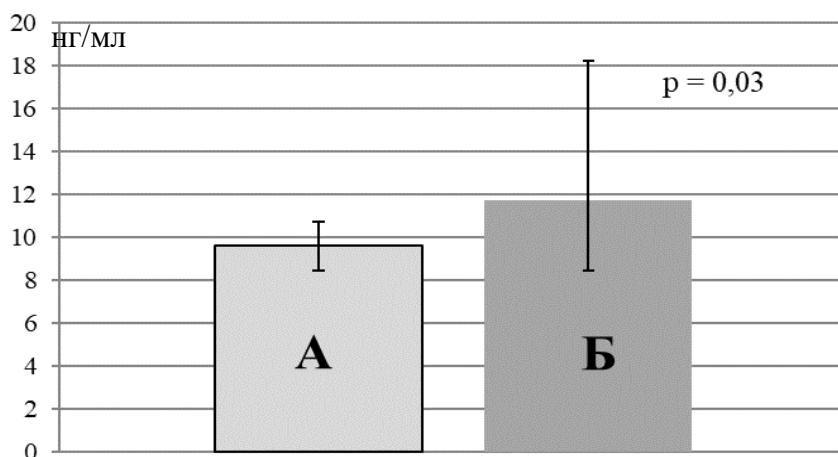
компенсированным циррозом класса А по Чайлд-Пью, а всего у двоих больных с тяжестью ЦП класса А имелся генотип с наличием минорного аллеля.



Примечание: А – *1/*1, Б – *1/*2, использовался U-критерий Манна-Уитни.

Рисунок 19 – Содержание PIIINP в крови пациентов с алкогольным ЦП в зависимости от генотипа *ADH1B*. График медиан с доверительными интервалами

Подобные данные получены и при анализе содержания биомаркера фиброза у пациентов с ЦП в зависимости от полиморфизма генотипа цитохрома *CYP2E1* (рисунок 20).



Примечание: А – c1/c1, Б – c1/c2, использовался U-критерий Манна-Уитни.

Рисунок 20 – Содержание PIIINP в крови пациентов с алкогольным ЦП в зависимости от генотипа *CYP2E1*. График медиан с доверительными интервалами

Наличие минорного аллеля (9 чел.) было ассоциировано с более высокими уровнями РШНР, чем при гомозиготном генотипе *c1/c1*): 11,7 (9,8 – 11,8) нг/мл vs 9,6 (7,15 – 11,85) нг/мл, $p = 0,03$. При этом гетерозиготный генотип *c1/c2* регистрировался только у одного пациента среди больных с тяжестью цирроза класса А.

Таким образом, присутствие гетерозиготного генотипа *ADH1B* *1/*2 было ассоциировано с более высокими плазменными уровнями РШНР у больных циррозом печени, чем у лиц с циррозом печени при отсутствии полиморфизма гена. При обнаружении минорного аллеля *c2* отмечались более высокими показателями РШНР у пациентов с алкогольным гепатитом и ЦП, чем в случаях наличия генотипа *c1/c1 CYP2E1*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Чрезмерное употребление алкоголя – это количество употребления алкоголя, приводящая к проблемам со здоровьем или психосоциальным проблемам, что является основным фактором риска развития АБП [38].

Даже минимальное употребление алкоголя не приносит никакой пользы для здоровья, и любое количество употребляемого алкоголя потенциально может нанести вред. Однако только у 10-20% людей с хроническим чрезмерным употреблением алкоголя развивается ЦП [56]. Вероятность развития тяжелых форм АБП зависит от доз и от продолжительности употребления алкоголя, однако существует значительная индивидуальная вариабельность из-за генетических факторов и наличия сопутствующих заболеваний [34, 36, 223].

Алкогольдегидрогеназа отвечает за превращение этанола в токсичный, гиперактивный побочный продукт – ацетальдегид. Затем альдегиддегидрогеназа превращает ацетальдегид в ацетат, менее токсичное соединение, для дальнейшего выведения [46]. *ADH1B* имеет три различных аллеля, в которых есть изменения в аминокислотной последовательности кодируемой β -субъединицы. Аллель *ADH1B*1* кодирует β 1-субъединицу с аргинином в позиции 47, а аллель *ADH1B*2* кодирует β 2-субъединицу с гистидином в позиции 47. Оба аллеля распространены в азиатской популяции. *ADH1B*3* кодирует субъединицу β 3 и содержит цистеин в позиции 370; этот аллель в основном встречается у людей африканского происхождения. Хорошо известный генетический полиморфизм *ADH1B* — это замена аргинина на гистидин) в 47-м кодоне из-за перехода основания G/A в экзоне 3 [79, 108].

В нашем исследовании распространенность генотипов гена *ADH1B* и аллелей *1 и *2 у пациентов с АБП не отличалась от здоровой популяции и не зависела от возраста и половой принадлежности пациентов. Наши результаты согласуются с другими данными о распространенности генотипов *ADH1B* в кавказской (белая раса) популяции людей, не употребляющих алкоголь в

токсических дозах [26, 176, 110]. Наличие генотипов *ADH1B**1/*1, *ADH1B**1/*2 и *ADH1B**2/*2 влияет на метаболизм алкоголя, его потребление и переносимость. Генетические полиморфизмы в генах *ADH1B*, и генетические вариации в кодируемых ферментах, метаболизирующих алкоголь, связаны с изменениями в метаболизме алкоголя, реакции на него, потреблении и связанных с этими проблемами [179]. Наличие генотипа *ADH1B**1/*1 повышает переносимость алкоголя и склонность к алкоголизму, предшествующему развитию заболеваний, связанных с употреблением алкоголя [108]. При этом уже давно ведутся дискуссии о влиянии генетического полиморфизма *ADH1B**2 на развитие алкоголизма и АБП, а данные литературы противоречивы.

Среди наших пациентов не было обнаружено ни одного человека с генотипом *ADH1B**2/*2, аналогичные данные были получены в турецком исследовании [141]. Также среди населения Непала вариант *ADH1B**1/*1 являлся наиболее распространенным из всех генотипов как у лиц, употребляющих алкоголь, так и у лиц, не употребляющих алкоголь, в то время как частота *ADH1B**1/*2 была низкой как у алкоголиков, так и в контрольной группе [108].

Мы не обнаружили статистически значимых различий долей аллелей *1 и *2 у мужчин и женщин, но следует отметить, что женщин в нашем исследовании было в 2 раза меньше. Также не было различий в распределении генотипов и аллелей гена *ADH1B* в зависимости от возраста пациентов.

Анализ долей генотипов *ADH1B* среди разных нозологических групп показал, что гетерозиготный генотип *1/*2 при ЦП наблюдался чаще, чем у больных с АГ. Была также замечена статистически незначимая тенденция к большей доле генотипа *1/*2 при алкогольном ЦП. В других клинических группах пациентов с АБП частоты генотипов и аллелей *ADH1B* не отличалась от группы контроля. Отмечено также, что минорный аллель *2 при ЦП выявлялся чаще, чем у лиц контрольной группы, не злоупотребляющих алкоголем. При алкогольном гепатите распределение генотипов и аллелей гена

ADH1B не различалось при разных значениях индекса Мэддрея. При этом здесь могло оказать влияние небольшое количество человек в каждой подгруппе. При алкогольном ЦП аллель *ADH1B*2* выявляли очень редко, но были отмечены эти полиморфизмы у 8% здоровых лиц, что предполагало влияние этой мутации на снижение риска развития ЦП [176]. Сообщали, что присутствие генотипа *ADH1B*2* понижает риск развития алкоголизма на 30% из-за плохой переносимости алкоголя у этих лиц [109]. В то же время в российской популяции пациентов с алкогольным ЦП аллель *ADH1B*2* наблюдали чаще относительно пациентов с АБП, но без признаков сформировавшегося цирроза [3]. Среди наших пациентов была отмечена тенденция к большей распространенности генотипа *1/*2 и минорного аллеля *2 при наличии класса С цирроза печени относительно компенсированного цирроза. Но статистической значимости этих различий не было.

Полиморфизм (Glu487Lys), а именно аллель *ALDH2*2*, вызывает каталитическую инактивацию *ALDH2*, что впоследствии приводит к чрезмерному накоплению ацетальдегида [71]. Мы не обнаружили среди наших больных полиморфизма гена *ALDH2* Glu504Ly. Однако среди здоровых лиц у одного обследованного зарегистрировали гетерозиготный генотип *1/*2. Это не позволило проводить анализ данных по этому гену.

Люди, имеющие генотипы с присутствием минорных аллелей *ADH1B*2* и *ALDH2*2*, также употребляют меньше алкоголя из-за неприятных физиологических и психологических последствий, таких как сердечно-сосудистые нарушения, дисфория, учащённое сердцебиение, сухость во рту, головная боль, тошнота и покраснение лица, которые связывают с накоплением ацетальдегида [141]. Таким образом, эти аллели, по-видимому, связаны с защитным эффектом от алкогольной интоксикации и алкогольной зависимости [92]. Наши данные соответствуют результатам других исследователей среди лиц популяции белой расы. Так у всех злоупотребляющих алкоголем лиц и у непьющих людей в 100% находили только генотип *1/*1 *ALDH2* [110]. Среди

населения Азии имеется другая особенность – значительная распространенность генотипа *ALDH2*2* и аллель *2 [27, 45, 55].

В нашем исследовании гетерозиготный вариант *c1/c2* гена *CYP2E1* и соответственно мутантный аллель *c2* в группе больных АБП регистрировали чаще относительно группы контроля. Фермент *CYP2E1* играет важную роль в реализации микросомального пути метаболизма этанола. Индукция активности *CYP2E1* может возникать при хроническом злоупотреблении алкоголем, а это способствует гиперпродукции АФК, развитию оксидативного стресса и цитолизу гепатоцитов [49, 144]. Масштабный метанализ, объединивший данные множества работ в различных этнических популяциях, выявил значимую корреляцию между наличием у пациентов гомозиготного генотипа *CYP2E1 G-1293C (c2/c2)* с повышенной вероятностью развития алкоголь-ассоциированных заболеваний печени сравнительно с лицами, злоупотребляющими алкоголем, но не имеющими признаков АБП [200].

Доли генотипов и аллелей гена *CYP2E1* не зависела от возраста и половой принадлежности пациентов. Следует отметить, что женщины демонстрируют повышенную уязвимость к развитию АБП при меньших суточных дозах алкоголя по сравнению с мужчинами. Предполагается, что данная разница обусловлена более высоким процентным содержанием жировой ткани в организме женщин и сниженной активностью алкогольдегидрогеназы в слизистой оболочке желудка [120]. Важно подчеркнуть, что в рамках настоящего исследования численность женщин была в два раза меньше, чем мужчин.

При рассмотрении отдельных групп пациентов оказалось, что при стеатозе печени никаких отличий в распределении генотипов от группы здоровых не было. В группе пациентов с АГ генотип *c1/c2* и аллель *c2* гена выявлялись чаще относительно группы контроля. Очевидно, при употреблении больших количеств алкоголя, вызывающих развитие АГ, возникает повышенная индукция *CYP2E1*, возрастает роль микросомального пути метаболизма этанола, и наличие мутантного аллеля *c2* в этой ситуации, вносит

негативный вклад в патогенез заболевания. При этом мы выявили статистически незначимую тенденцию к большей частоте мутаций гена *CYP2E1* наиболее тяжелых вариантах АГ (MDF > 32). Можно предположить, что эта статистическая незначимость была обусловлена небольшим количеством пациентов в подгруппах. У наших больных с АГ, обладающих аллелем *c2 CYP2E1*, наблюдался генотип *ADH1B*1/*1 / ALDH2*1*1 / CYP2E1 (c1/c2)*. Данная комбинация генетических маркеров хорошую генетически комбинации с полиморфизмом *CYP2E1* указывает на предрасположенность к хорошей переносимости алкоголя, обусловленной генетически.

При ЦП алкогольной этиологии распределение генотипов и аллелей *CYP2E1* не отличались от здоровых, но эта группа оказалась различной по долям генотипов, встречаемость которых зависела от тяжести процесса. Так чаще генотип *c1/c2* и минорный аллель *c2* определяли чаще при ЦП класса В по Чайлд-Пью относительно больных с классом А. При этом ранее сообщалось, что полиморфизм *CYP2E1* может быть не связан с прогрессирующей формой алкогольной жировой болезни печени, но может быть связан с другими формами АБП, такими как стеатоз, гепатит, фиброз [200]. Важно подчеркнуть, что комбинация генотипов *ADH1B (1/2)* и *CYP2E1 (c1/c2)* была выявлена в нашем исследовании лишь в 4 случаях, причем у всех пациентов с данной комбинацией наблюдалась цирротическая трансформация печени.

Заболевание печени любой этиологии сопровождается прогрессированием фиброза, а судьба пациента зависит от темпов фиброгенеза. Выбор надежных маркеров фиброза является важной клинической задачей. В нашем исследовании мы выбрали в качестве биомаркера метаболизма соединительной ткани в печени содержание PIIINP в крови. Коллаген является наиболее распространенным белком в организме и основным компонентом фиброзной ткани. Известно, что коллаген I типа составляет существенную часть ВКМ и является наиболее распространенным коллагеном в организме человека [212]. На его долю приходится более 90% костного белка, и его очень много в коже и других мягких тканях. В отличие от других типов, коллаген III

типа сосредоточен в мягких тканях и его уровень отражает активность миофибробластов, находящихся в фиброзной ткани. Это обуславливает более высокую чувствительность коллагена III типа (и других минорных коллагенов) в качестве индикатора фиброзных изменений. Таким образом, пептиды коллагена III типа (включая пропептиды) представляют собой ценные предиктивные маркеры фиброза печени [175, 220].

Было выявлено, что у пациентов с АБП плазменные уровни PIIINP превышали нормальные значения. Концентрация PIIINP в крови не зависела от возраста и пола пациентов. При этом степень повышения маркера зависела от клинического варианта АБП. Алкогольный стеатоз печени ассоциировался с умеренным ростом данного биомаркера. Связь PIIINP с основными биохимическими параметрами в этой группе отсутствовала. Хотя при индексе FIB-4 выше 1,45 прослеживалась невыраженная тенденция к повышению пептида. Небольшое превышение нормы для показателя PIIINP у больных со стеатозом отражает незначительную выраженность фиброза и возможность его обратного развития.

У пациентов с АГ и циррозом печени наблюдались самые высокие уровни PIIINP. Не было статистически значимых различий концентраций PIIINP в крови у пациентов с АГ, как при наличии, так и при отсутствии фона в виде сформировавшегося цирроза печени. Поэтому мы анализировали этих пациентов, как совместную группу, в которой содержание PIIINP имело максимальные значения и было выше подобных показателей при стеатозе и ЦП. Высокие показатели маркеров фиброза, наблюдаемые при тяжелом АГ, указывают на интенсивное некротическое и воспалительное поражение печени. Таким образом, эти маркеры могут выступать в качестве дополнительного клинического показателя активности заболевания и помогать прогнозировать его исходы [188]. Предполагают, что здесь имеет значение дисбаланс в обмене коллагена: преобладание его продукции над распадом при выраженном воспалении [188].

Содержанием в крови PIII_{NP} при АГ положительно коррелировало с показателями активности АсАТ и ГГТ, а повышение этих ферментов наиболее характерно для тяжелых клинических форм АБП. По данным же других исследователей Col III позитивно коррелировал с АлАТ и щелочной фосфатазой [8]. Сообщали также, что наблюдали у таких пациентов положительную корреляцию между содержанием в крови провоспалительных интерлейкинов (IL-8, IL-6), молекул эндотелиальной дисфункции (ET-1, sICAM-1) и стадией фиброза печени [2]. У пациентов с АГ и наличием холестатического синдрома содержание изучаемого биомаркера фиброза было выше, чем при отсутствии холестаза. Нужно отметить, что холестатический синдром отмечался у наиболее тяжелых пациентов.

Индекс MDF служит для определения тяжести алкогольного гепатита. Значение $MDF \geq 32$ ассоциируется с 50% вероятностью летального исхода [84, 91]. Интересно, что в 9 случаях АГ со значением $MDF > 32$ наблюдалось статистически значимое повышение уровня PIII_{NP}, сравнительно с остальными больными, что дополнительно характеризовало тяжесть пациентов с высоким показателем индекса Мэддрей. Дальнейший мониторинг больных с АГ показал, что летальность в группе в течение 2-х лет достигла 40,7%. Мы определили пороговый уровень в крови PIII_{NP}, который можно было бы считать прогностическим критерием дальнейшего неблагоприятного исхода. Для этого был применен метод ROC-анализа. Оказалось, что при содержании в крови PIII_{NP} выше 17,0 нг/мл неблагоприятный исход более вероятен, и, следовательно, уровень изучаемого биомаркера фиброза может служить дополнительным предиктором летальности.

У пациентов с ЦП плазменный уровень PIII_{NP} был выше не только показателя здоровых, но и пациентов со стеатозом печени. В этой группе, также как и при АГ, была выявлена положительная корреляция между содержанием в крови PIII_{NP} и активностью АсАТ. Эта закономерность отражала зависимость активности цитолиза с прогрессированием фиброза в печеночной ткани. Но, в

отличие от АГ, не выявлялась корреляция с активностью ГГТ. Следует отметить, что и очень высокие показатели ГГТ были отмечены в случаях АГ.

В группе пациентов с алкогольным ЦП показатели РИПНР нарастали в зависимости от класса цирроза по шкале Чайлд-Пью. Содержание маркера фиброза у пациентов с ЦП классов В и С было выше, чем у больных класса А, но между собой уровни пациентов с классом В и С по Чайлд-Пью уже не различались. Фиброгенез – это динамичный репаративный процесс, находящийся под контролем ростовых факторов и цитокинов [116]. Печень обладает уникальным регенеративным потенциалом, а образование соединительной ткани в печени способно иметь обратное развитие. При исчезновении повреждающего агента регрессия фиброза вполне возможна. Но в условиях перманентного повреждения (в случаях с нашими пациентами это алкоголь) нарастает фиброгенез, и регрессия становится нереальной, приводя к фатальным исходам. Принято считать, что существует «точка невозврата», при которой избыточное накопление ВКМ вызывает значительные нарушения архитектоники органа, ведущее к портальной гипертензии и невозможности обратного развития фиброза [196]. Продемонстрировано, что при ЦП смешанной этиологии именно количественный показатель коллагена являлся прогностическим критерием декомпенсации функции печени [196].

Мы наблюдали наших пациентов с 2017 г. по 2024 г. Смертность в группе с ЦП с ЦП от момента их включения в протокол исследования составила $2,9 \pm 1,55$ лет. Среди умерших преобладали больные с классом С по Чайлд-Пью (78,3%), а у 21,7% был определен класс В. Мы предположили, что содержание РИПНР в плазме крови при ЦП может отражать, не только уровень фиброза в данный момент времени, но и послужить предиктором отдаленных неблагоприятных событий. Содержание N-терминального пептида проколлагена III у умерших до 2024 г. и живых пациентов не различалось. Таким образом, уровень РИПНР у больных ЦП не смог быть предиктором выживаемости, а скорее отражал общую тяжесть заболевания на момент включения в протокол, как и шкала Чайлд-Пью. Здесь, очевидно, имеет место и

влияние таких факторов, как наличие абстиненции и адекватность последующей терапии по месту жительства.

Для больных ЦП риском является не только опасность дальнейшей декомпенсации функции печени или возникновение осложнений портальной гипертензии, но и опасность развития гепатоцеллюлярного рака [11]. Цирротически измененная печень с наличием гиперпластических узлов имеет высокий пролиферативный потенциал. Метаболизм этанола приводит к образованию ацетальдегида и активных форм кислорода, которые могут вызывать повреждение ДНК и инициировать злокачественную трансформацию. Ацетальдегид, будучи очень реакционноспособным и токсичным промежуточным продуктом этанола, вызывает различные модификации ДНК, в том числе мутагенные повреждения ДНК и хромосомную нестабильность [20, 32].

Нами были рассчитаны трех- и пятилетние риски развития рака печени с помощью онлайн-калькулятора рисков ГЦР для всех больных циррозом печени. Исследование выявило, что у пациентов с циррозом печени (ЦП) класса С наблюдался повышенный риск развития рака как через 3, так и через 5 лет по сравнению с пациентами с компенсированным циррозом класса А. Кроме того, показатель R5 (вероятность развития рака в течение 5 лет) был выше у пациентов с ЦП класса С, чем у пациентов с циррозом класса В по шкале Чайлд-Пью. Максимальное значение R5, составившее 13,1%, было зафиксировано у пациентов с ЦП класса С по Чайлд-Пью. Наши данные согласуются со сведениями, полученными из литературных источников. Риск развития ГЦР у пациентов с алкогольным циррозом печени составлял от 1,3% до 3% в год, а кумулятивные риски за 5 и 10 лет составили 3% и 9% соответственно [12, 40, 85, 119].

Была изучена зависимость риска развития ГЦР от уровней PIII_{NP} в крови больных циррозом. Для этого мы вычислили коэффициент корреляции между показателями PIII_{NP} и значениями R3 и R5 соответственно. Оказалось, что имелась прямая корреляционная зависимость показателей 5-летнего риска с

содержанием биомаркера фиброза в крови. Однако следует отметить, что РШНР также демонстрировал самые высокие уровни при тяжелых формах ЦП. Полученные данные подчеркивают значимость диспансеризации больных алкогольным циррозом печени, учитывая высокие риски развития ГЦР у этой категории больных [4].

Наш закономерный интерес вызывал факт наличия взаимосвязи содержания РШНР в крови пациентов с АБП и наличием генетических полиморфизмов алкоголь-метаболизирующих ферментов.

При алкогольном стеатозе печени генотип *ADH1B* *1/*2 отмечали только у двух больных, а минорный аллель *c2* гена *CYP2E1* лишь у 1 больного. Поэтому группа с наличием стеатоза не была включена в анализ предполагаемой взаимосвязи. Также в группе с АГ не представлялось возможным исследовать зависимость уровня РШНР в крови от присутствия минорного аллеля *2 гена *ADH1B* из-за крайне малой выборки (всего 2 случая). Тем не менее, при генотипе *CYP2E1* *c1/c2* содержание маркера фиброза в плазме превышало аналогичный показатель лиц с гомозиготным генотипом *c1/c1*. Можно думать, что очень большие дозы этанола при АГ на фоне гипериндукции *CYP2E1* ведут к возрастающей роли микросомального метаболизма алкоголя. Присутствие минорного аллеля *c2* в этих случаях способствует накоплению токсических метаболитов и усилению воспаления, а также последующего фиброза.

В группе алкогольного ЦП при наличии генотипа *ADH1B* *1/*2 уровень в крови РШНР превышал показатели данного биомаркера пациентов с генотипом *1/*1. При этом следует помнить, что присутствие минорного аллеля *2 и встречалось чаще у пациентов с классом С по Чайлд-Пью. Аналогичная зависимость была характерно и для присутствия у пациентов минорного аллеля *c2*. Гетерозиготный механизм *c1/c2* сопровождался более высокими уровнями РШНР. Здесь также следует отметить, что гетерозиготный генотип *c1/c2* регистрировался только в одном случае ЦП класса А.

Полученные нами данные исследования способствовали установлению взаимосвязи между изученной нами гетерогенностью генов алкоголь-метаболизирующих ферментов, уровнями биомаркера фиброза PIIINP и клиническими, и лабораторными данными алкогольной болезни печени. Установленные закономерности позволят выделять группы риска неблагоприятного прогрессирующего течения заболевания, индивидуализировать терапевтический подход к пациентам, особенно с неблагоприятными клиническими вариантами – алкогольным гепатитом тяжелого течения и циррозом печени. Особое значение следует придавать последующему наблюдению за пациентами с выявленными неблагоприятными предикторами прогрессирующего течения на дальнейшем амбулаторном этапе, а также ранней диагностики гепатоцеллюлярного рака.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с алкогольной болезнью печени распространенность генотипов гена *ADH1B* Arg47His и аллелей *1 и *2 не отличалась от здоровой популяции, а полиморфизмы гена *ALDH2* Glu504Lys отсутствовали. Генотип c1/c2 гена *CYP2E1* G-1293C и минорный аллель c2 чаще встречались в группе больных алкогольной болезнью печени, чем в группе здоровых. Частота долей генотипов и аллелей генов *ADH1B* и *CYP2E1* не зависела от возраста и половой принадлежности пациентов.

2. При стеатозе печени доли полиморфизмов генов *ADH1B* и *CYP2E1* не отличались от их количества у здоровых лиц. В случаях с алкогольным гепатитом тяжелого течения частота встречаемости генотипов и аллелей гена *ADH1B* не превышала таковую в группе контроля, а гетерозиготный генотип c1/c2 и аллель c2 гена *CYP2E1* выявлялись чаще, чем у здоровых лиц. Прослежена тенденция к большим частотам полиморфизма гена *CYP2E1* при значениях индекса Мэддрея более 32.

3. При циррозе печени гетерозиготный генотип гена *ADH1B* *1/*2 встречался чаще, чем у больных с алкогольным гепатитом, а аллель *2 у больных циррозом печени – чаще, чем в группе контроля. Установлена тенденция к большим долям генотипа *1/*2 и аллеля *2 при циррозе печени класса С по Чайлд-Пью сравнительно с циррозом печени класса А. Наличие гетерозиготного генотипа *CYP2E1* и минорного аллеля c2 обнаруживалось чаще при циррозе печени класса В чем при классе А. Комбинация неблагоприятных генотипов *ADH1B* (*1/*2) и *CYP2E1* (c1/c2) была зарегистрирована только в случаях цирроза печени.

4. У больных алкогольной болезнью печени содержание в крови PIII_{NP} повышено с наиболее высокими уровнями при тяжелом алкогольном гепатите и циррозе печени. Показатели PIII_{NP} у пациентов с алкогольным гепатитом на фоне сформировавшегося цирроза печени и у больных без цирроза печени не различались. При алкогольном гепатите содержание PIII_{NP} в крови пациентов

находится в прямой зависимости от активности АсАТ и ГГТ, а также от наличия холестатического синдрома и показателях индекса Мэддрей более 32.

5. В случаях алкогольного цирроза печени содержание РПНР в крови больных положительно коррелировало с активностью АсАТ при наиболее высоких уровнях при циррозе классов В и С. Наличие минорного аллеля *c2* сопровождалось более высокими показателями РПНР у пациентов с алкогольным гепатитом, чем в случаях генотипа *c1/c1 CYP2E1*. Плазменный уровень РПНР был выше у больных циррозом печени с наличием генотипов *ADH1B *1/*2* и *CYP2E1 c1/c2*, чем при отсутствии генетических полиморфизмов генов.

6. Концентрация РПНР в крови более 17 нг/мл при алкогольном гепатите тяжелого течения может служить предиктором неблагоприятного (летального) исхода, характеризуя общую тяжесть заболевания. При алкогольном циррозе печени отмечены высокие 3-летние и 5-летние риски развития гепатоцеллюлярного рака с тенденцией к росту при нарастании тяжести цирроза печени. Пятилетний риск развития ГЦР коррелировал с плазменным уровнем РПНР.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью предикции развития тяжелых клинических вариантов заболевания у пациентов с алкогольной болезнью печени следует определять полиморфизмы генов алкогольдегидрогеназы *ADH1B* Arg47His и гена цитохрома *CYP2E1* G-1293C.

2. В качестве одного из дополнительных показателей неблагоприятного исхода алкогольного гепатита тяжелого течения следует использовать концентрацию PIIINP в плазме крови, превышающую 17 нг/мл.

3. Вычисление 3-х и 5-летних рисков развития гепатоцеллюлярного рака с помощью онлайн-калькулятора «HCC risk calculator» при алкогольном циррозе печени следует использовать с целью выделения групп для последующего риск-ориентированного диспансерного наблюдения.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ТЕМЫ

В нашем исследовании изучались полиморфизмы генов алкоголь-метаболизирующих ферментов. Однако развитие тяжелого фиброза и прогрессирование его до алкогольного цирроза печени определяют также и другие генетические факторы – *PNPLA3*, *TM6SF2* и *MBOAT7*, и некоторые другие. Все эти генетические модификаторы участвуют в метаболизме липидов и ухудшают состояние при алкогольном циррозе печени. Представляется целесообразным изучать также дополнительно и влияние полиморфизмов этих генов на особенности течения АБП.

Перспективным также может быть изучение в крови больных АБП в комплексе с PIIINP других маркеров метаболизма соединительной ткани: гиалуроновую кислоту, ламинин, проколлаген III типа и коллаген IV типа, которые в высокой степени коррелируют с уровнем фиброза печени. Соотношение этих отдельных показателей фиброза может внести ясность в понятие механизмов фиброгенеза.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ADH – алкогольдегидрогеназа

ADH1B – ген изофермента 1В алкогольдегидрогеназы

ALDH – альдегиддегидрогеназа

ADH2B – ген изофермента 2В альдегиддегидрогеназы

APRI – AST to Platelet Ratio Index, неинвазивный индекс фиброза

CYP2E1 – цитохром P450 2E1

CYP2E1 – ген цитохрома P450 2E1

Col – коллаген

FIB-4 – Fibrosis-4 index, неинвазивный индекс фиброза

HGB - гемоглобин

IL – интерлейкин

MDF – Maddrey discriminant function, индекс Мэддрея

MELD – Model for End-Stage Liver Disease, шкала для оценки тяжести цирроза печени

NAD⁺ — Nicotinamide adenine dinucleotide, окисленная форма

NADH - Nicotinamide adenine dinucleotide, восстановленная форма

NADP – никотинамидадениннуклеотидфосфат

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

PLT – тромбоциты

PIIINP – N-концевой пропептид коллагена III типа

RBC - эритроциты

TGF- β – трансформирующий фактор роста β

TIMP-1 – тканевые ингибиторы металлопротеиназ

TNF- α – фактор некроза опухоли- α

WBC – лейкоциты

АБП – алкогольная болезнь печени

АГ – алкогольный гепатит

АлАТ – аланиновая аминотрансфераза

АсАТ – аспарагиновая аминотранфераза

АФК – активные формы кислорода

ВКМ – внеклеточный матрикс

ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ГК – гиалуроновая кислота

ГКС - глюкокортикостероиды

ГЦН – гепатоцеллюлярная недостаточность

ГЦР – гепатоцеллюлярный рак

ЗК – звездчатые клетки

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ТГ – триглицериды

МАЖБП – метаболически-ассоциированная жировая болезнь печени

МНО – международное нормализованное отношение

МВС – мезенхимально-воспалительный синдром

МС – метаболический синдром

НАЖБП – неалкогольная жировая болезнь печени

НАСГ – неалкогольный стеатогепатит

ПВ – протромбиновое время

ПТИ – протромбиновый индекс

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СД – сахарный диабет

СЖК – свободные жирные кислоты

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЩФ – щелочная фосфатаза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алкогольная болезнь печени (АБП) у взрослых / Л.Б. Лазебник, Е. В. Голованова, Л.В. Тарасова [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – Т. 174 (2). – С. 4-28. – DOI: 10.31146/1682-8658 есг-174-2-4-28
2. Влияние маркеров эндотелиальной дисфункции, цитокинового статуса, гена коллагена *COL1A1_1* на развитие фиброза печени у пациентов, злоупотребляющих алкоголем / А.С. Иванов, Е.В. Тарасенко, И.В. Гармаш [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т. 63, № 3. – С. 55-63. – DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.55-63
3. Гармаш, И.В. Алкогольный цирроз печени: роли генотипа алкогольдегидрогеназы 2 и вирусов гепатита В и С: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.05; 03.00.15 / Гармаш Ирина Владимировна. А. – М., 2002. – 16 с.
4. Диспансерное наблюдение пациентов с алкогольным циррозом печени врачом-терапевтом в первичном звене здравоохранения. Методические рекомендации / О.М. Драпкина, В.Т. Ивашкин, И.В. Маев [и др.] // Первичная медико-санитарная помощь. – 2025. – Т. 2, №1. – С. 115-145. – DOI: 10.15829/3034-4123-2025-33
5. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Национального научного общества инфекционистов по диагностике и лечению хронического вирусного гепатита С / В.Т. Ивашкин, В. П. Чуланов, Н. А. Мамонова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2023. – Т. 33 (1). – С. 84-125. – DOI: 10.22416/1382-4376-2023-33-1 84-125
6. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению фиброза и цирроза печени и их осложнений / В.Т. Ивашкин, М.В. Маевская, М. С. Жаркова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии,

гепатологии, колопроктологии. – 2021. – Т. 31 (6). – С. 56-102. – DOI: 10.22416/1382-4376-2021-31-6-56-102

7. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени / В.Т. Ивашкин, Л.Б. Лазебник, Е.В. Голованов [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2025. – Т. 35 (1). – С. 94-152. – DOI: 10.22416/1382-4376-2025-35-1-94-152

8. Коллагены третьего и четвертого типов при разных формах алкогольной болезни печени / О.П. Дуданова, А.С. Родина, М.Э. Шубина [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – № 207 (11). – С. 128-134. – DOI: [10.31146/1682-8658-ecg-207-11-128-134](https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-11-128-134)

9. Молекулярные аспекты прогрессирования фиброза печени алкогольной этиологии / Я.В. Киселева, Ю.О. Жариков, Р.В. Масленников [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – №15 (2). – С. 288-293. – DOI: 10.14300

10. Новые подходы к лечению алкогольного гепатита тяжелого течения / П.Е. Ткаченко, А.И. Павлов, И.И. Комкова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2015. – №25 (5). – С. 57-63.

11. Общая выживаемость пациентов с циррозом печени / В.В. Петкау, Е.Н. Бессонова, В.В. Бредер [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2023. – Т. 18 (3). – С. 257-260. – DOI: 10.14300/mnnc.2023.18060

12. Результаты двойного слепого рандомизированного плацебоконтролируемого многоцентрового пострегистрационного (IV фаза) клинического исследования «Ягуар» (PHG-M2/P03-12) для оценки эффективности и безопасности комбинированного препарата глицирризиновой кислоты и эссенциальных фосфолипидов (Фосфоглив[®]) при лечении больных алкогольной болезнью печени / И.Г. Бакулин, Н.А. Бохан, П.О. Богомолов, Н.И. Гейвандова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии,

колопроктологии. – 2017. – № 27(3). – С. 57-68. – DOI: [10.22416/1382-4376-2017-27-3-57-68](https://doi.org/10.22416/1382-4376-2017-27-3-57-68)

13. Современные подходы к диагностике фиброза при алкогольной болезни печени / Ф.М. Кузма, Т.А. Туранкова, А.А. Усанова, Ч.С. Павлов // Доктор.Ру. – 2019. – № 3 (158). – С. 21–26. – DOI: [10.31550/1727-2378-2019-158-3-21-26](https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-158-3-21-26)

14. Уваров, И.А. Роль препарата Гепамерц (l-орнитина-l-аспартата) в комплексном лечении алкогольного делирия / И.А. Уваров // Вопросы наркологии. – 2009. – № 3. – С. 35-43

15. Шерцингер, А.Г. Патогенез, диагностика, профилактика и лечение кровотечений из варикозных вен пищевода и желудка у больных портальной гипертензией: автореф. дис. доктора мед. наук: 14.00.27 / Шерцингер Александр Георгиевич. – М., 1986. – 48 с.

16. A class of environmental and endogenous toxins induces BRCA2 haploin sufficiency and genome instability / S.L.W. Tan, S. Chadha, Y. Liu [et al.] // Cell. – 2017. – Vol.169. – P. 105-118. – DOI: [10.1016/j.cell.2017.05.010](https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.010)

17. A cohort study examining the interaction of alcohol consumption and obesity in hepatic steatosis and mortality / T.B. Peeraphatdit, J.C. Ahn, D.H. Choi [et al.] // Mayo Clin Proc. – 2020. – Vol. 95 (12). – P. 2612–20. – DOI: [10.1016/j.mayocp.2020.04.046](https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.04.046)

18. A randomized placebo controlled trial of vitamin E for alcoholic hepatitis / E. Mezey, J.J. Potter, L. Rennie-Tankersley [et al.] // J Hepatol. – 2004. – Vol.40 (1). – P. 40–6. –DOI: [10.1016/s0168-8278\(03\)00476-8](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(03)00476-8)

19. Accuracy of the enhanced liver fibrosis test vs FibroTest, elastography, and indirect markers in detection of advanced fibrosis in patients with alcoholic liver disease / M. Thiele, B.S. Madsen, J.F. Hansen [et al.] // Gastroenterology – 2018. – Vol. 154 (5). – P. 1369-79. –DOI: [10.1053/j.gastro.2018.01.005](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.01.005)

20. Acetaldehyde induces NER repairable mutagenic DNA lesions / Y. Sonohara, R. Takatsuka, C. Masutani [et al.] // Carcinogenesis. – 2022. – Vol. 43. – P. 52–59. –DOI: [10.1093/carcin/bgab087](https://doi.org/10.1093/carcin/bgab087)

21. Acetaldehyde-induced mitochondrial dysfunction sensitizes hepatocytes to oxidative damage / B.E. Farfan Labonne, M. Gutierrez L.E. Gomez-Quiroz [et al.] // *Cell Biol Toxicol.* – 2009. – Vol. 25 (6). – P. 599-609. – DOI: [10.1007/s10565-008-9115-5](https://doi.org/10.1007/s10565-008-9115-5)
22. ACG Clinical Guideline: Alcohol-Associated Liver Disease / L.L. Jophlin, A. K. Singal, R. Bataller [et al.] // *The American Journal of Gastroenterology.* – 2024. – Vol. 119 (1). – P. 30-54. – DOI: [10.14309/ajg.0000000000002572](https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000002572).
23. Acute binge drinking increases serum endotoxin and bacterial DNA levels in healthy individuals / S. Bala, M. Marcos, A. Gattu [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9 (5). – P. e96864. – DOI: [10.1371/journal.pone.0096864](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096864)
24. ADAPT: an algorithm incorporating PRO-C3 accurately identifies patients with NAFLD and advanced fibrosis / S.J. Daniels, D.J. Leeming, M. Eslam [et al.] // *Hepatology.* – 2019. – Vol.69. – P. 1075-1086. – DOI: [10.1002/hep.30163](https://doi.org/10.1002/hep.30163)
25. *ADH* single nucleotide polymorphism associations with alcohol metabolism in vivo / A.J. Birley, M.R. James, P.A. Dickson [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2009. – Vol. 18(8). – P. 1533-42. – DOI: [10.1093/hmg/ddp060](https://doi.org/10.1093/hmg/ddp060)
26. *ADH1B* is associated with alcohol dependence and alcohol consumption in populations of European and African ancestry / L.J. Bierut, A.M. Goate, N. Breslau [et al.] // *Molecular Psychiatry.* – 2012. – Vol. 17(4). – P. 445-450. – DOI: [10.1038/mp.2011.124](https://doi.org/10.1038/mp.2011.124)
27. *ADH1B* and *ADH1C* Genotype, Alcohol Consumption and Biomarkers of Liver Function: Findings from a Mendelian Randomization Study in 58,313 European Origin Danes / D.A. Lawlor, M. Benn, L. Zuccolo [et al.] // *PLOS ONE.* – 2014. – Vol. 9(12). – P. e114294. – DOI: [0.1371/journal.pone.0114294](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114294)
28. Agarwal, D.P. Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes / D.P. Agarwal // *Pathologie-Biologie (Paris).* – 2001. – Vol. 49. – P. 703-709. – DOI: [10.1016/s0369-8114\(01\)00242-5](https://doi.org/10.1016/s0369-8114(01)00242-5)
29. Albano, E. Immune mechanisms in alcoholic liver disease / E. Albano, M. Vidali // *Genes Nutr.* – 2010. – Vol. 5(2). – C. 141-7. – DOI: [10.1007/s12263-009-0151-4](https://doi.org/10.1007/s12263-009-0151-4)

30. Alcohol 2022 [Electronic resource] / Organization WWH. – 2022. – Access mode: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>

31. Alcohol and aldehyde dehydrogenase genotypes and drinking behavior of Chinese living in Shanghai / T. Muramatsu, Z.C. Wang, Y.R. Fang [et al.] // *Hum Genet.* – 1995. – Vol. 96 (2). – P. 151-4. – DOI: [10.1007/BF00207371](https://doi.org/10.1007/BF00207371)

32. Alcohol and endogenous aldehydes damage chromosomes and mutate stem cells / J.I. Garaycochea, G.P. Crossan, F. Langevin [et al.] // *Nature.* – 2018. – Vol. 553. – P. 171-177. – DOI: [10.1038/nature25154](https://doi.org/10.1038/nature25154)

33. Alcohol biomarkers in clinical and forensic contexts / H. Andresen-Streichert, A. Müller, A. Glahn [et al.] // *Dtsch Arztebl Int.* – 2018. – Vol. 115 (18). – P. 309-315. – DOI: [10.3238/arztebl.2018.0309](https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0309)

34. Alcohol consumption and risk of liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis / M. Roerecke, A. Vafaei, O.S.M. Hasan [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 114. – P. 1574–1586.

35. Alcohol drinking pattern and risk of alcoholic liver cirrhosis: A prospective cohort study / G. Askgaard, M. Grønbaek, M.S. Kjær [et al.] // *J Hepatol.* – 2015. – Vol. 62 (5). – P. 1061-7. – DOI: [10.1016/j.jhep.2014.12.005](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.12.005)

36. Alcohol drinking patterns and liver cirrhosis risk: Analysis of the prospective UK million women study / R.F. Simpson, C. Hermon, B. Liu [et al.] // *Lancet Public Health.* – 2019. – Vol.4 (1). – P. e41-8. – DOI: [10.1016/S2468-2667\(18\)30230-5](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(18)30230-5)

37. Alcohol elimination in native American Mission Indians: An investigation of interindividual variation / T.L. Wall, C. Garcia-Andrade, H.R. Thomasson [et al.] // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* –1996. – Vol. 20. – P. 1159-1164. – DOI: [10.1111/j.1530-0277.1996.tb01105.x](https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1996.tb01105.x)

38. Alcohol Facts and Statistics [Electronic resource] / National Institute of Alcoholism and Alcohol Abuse. – 2023. – Access mode: <https://www.niaaa.nih.gov/about-niaaa>.

39. Alcohol intake, alcohol dehydrogenase genotypes, and liver damage and disease in the Danish general population / J.S. Tolstrup, M. Grobaek, A. Tybjaerg-

Hansen, B.G. Nordestgaard // *Am. J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol.104. – P. 2182-88.
– DOI: [10.1038/ajg.2009.370](https://doi.org/10.1038/ajg.2009.370)

40. Alcohol-associated liver cancer / Y. Fu, L. Maccioni, X.W. Wang [et al.] // *Hepatology.* – 2024. – Vol.80 (6). – P. 1462-1479. – DOI: [10.1097/HEP.0000000000000890](https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000890)

41. Alcohol-associated liver disease-Global epidemiology / F. Åberg, Z.G. Jiang, H. Cortez-Pinto [et al.] // *Hepatology.* – 2024. – Vol. 80 (6). – P. 1307-1322. – DOI: [10.1097/HEP.0000000000000899](https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000899)

42. Alcoholic liver disease-related mortality in the United States: 1980-2003 / H. Paula, S.K. Asrani, N.C. Boetticher [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 105. – P. 1782-1787. – DOI:[10.1038/ajg.2010.46](https://doi.org/10.1038/ajg.2010.46)

43. Alcoholic pancreatitis in rats: Injury from nonoxidative metabolites of ethanol. *American Journal of Physiology* / J. Werner, M. Saghir, A.L. Warshaw [et al.] // *Gastrointestinal and Liver Physiology.* – 2002. – Vol. 283. – P. G65-G73. – DOI: [10.1152/ajpgi.00419.2001](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00419.2001)

44. Alcohol-related cirrhosis--early abstinence is a key factor in prognosis, even in the most severe cases / C. Verrill, H. Markham, A. Templeton [et al.] // *Addiction.* – 2009. – Vol. 104. – P. 768-774. – DOI: [10.1111/j.1360-0443.2009.02521.x](https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2009.02521.x)

45. Aldehyde dehydrogenase 2 and β_3 -adrenergic receptor gene polymorphisms: their association with elevated liver enzymes and metabolic syndrome / C. Murata, T. Watanabe, H. Furuya [et al.] // *Metabolism.* – 2003. – Vol. 52. – P. 1096–1101. – DOI: [10.1016/s0026-0495\(03\)00183-5](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(03)00183-5)

46. Aldehyde dehydrogenase 2 deficiency ameliorates alcoholic fatty liver but worsens liver inflammation and fibrosis in mice / H.J. Kwon, Y.S. Won, O. Park [et al.] // *Hepatology.* –2014. – Vol. 60. – P. 146–157. – DOI: [10.1002/hep.27036](https://doi.org/10.1002/hep.27036)

47. Aldehyde dehydrogenase 2 polymorphism for development to hepatocellular carcinoma in East Asian alcoholic liver cirrhosis /H. Abe, Y. Aida, N. Seki [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2015. – Vol. 30. – P. 1376–1383. – DOI: [10.1111/jgh.12948](https://doi.org/10.1111/jgh.12948)

48. *ALDH2* deficiency promotes alcohol-associated liver cancer by activating oncogenic pathways via oxidized DNA enriched extracellular vesicles / W. Seo, Y. Gao, Y. He [et al.] // *J Hepatol.* – 2019. – Vol. 71. – P. 1000-1011. – DOI: [10.1016/j.jhep.2019.06.018](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.06.018)

49. Allelic variations in alcohol metabolism genes (*ADH1B*, *ADH1C*, *CYP2E1*) and alcohol use disorder (AUD) in northeastern Brazil / A. J. Melo, J.A. Rocha, M.M. Carvalho [et al.] // *Research, Society and Development.* – 2022. – Vol. 11(13). – P. e477111335486. – DOI: [10.33448/rsd-v11i13.35486](https://doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35486)

50. Amodio, P. Hepatic encephalopathy: diagnosis and management / P. Amodio // *Liver Int.* – 2018. – Vol. 38. – P. 966-975. – DOI: [10.1111/liv.13752](https://doi.org/10.1111/liv.13752)

51. An expanded evaluation of the relationship of four alleles to the level of response to alcohol and the alcoholism risk / X. Hu, G. Oroszi, J. Chun [et al.] // *Alcoholism, Clinical and Experimental Research.* – 2005. – Vol. 29. – P. 8-16. – DOI: [10.1097/01.alc.0000150008.68473.62](https://doi.org/10.1097/01.alc.0000150008.68473.62)

52. Antioxidants versus corticosteroids in the treatment of severe alcoholic hepatitis: A randomized clinical trial / M. Phillips, H. Curtis, B. Portmann [et al.] // *J Hepatol.* – 2006. – Vol. 44 (4). – P. 784–90. – DOI: [10.1016/j.jhep.2005.11.039](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2005.11.039)

53. Armer, J.M. The performance of alcohol markers including ethyl glucuronide and ethyl sulphate to detect alcohol use in clients in a community alcohol treatment programme / J.M. Armer, L. Gunawardana, R.L. Allcock // *Alcohol Alcohol.* – 2017. – Vol. 52 (1). – P. 29–34. – DOI: [10.1093/alcalc/agw072](https://doi.org/10.1093/alcalc/agw072)

54. Association between the *CYP1A1* polymorphisms and hepatocellular carcinoma: A meta-analysis / B.W. Yu, L.Q. Zhang, X.L. Teng [et al.] // *Genetics and Molecular Research.* – 2015. – Vol.14. – P. 1076-1084. – DOI: [10.4238/2015.6.11](https://doi.org/10.4238/2015.6.11)

55. Association of *ADH1B* rs1229984, *ADH1C* rs698, and *ALDH2* rs671 with Alcohol abuse and Alcoholic Cirrhosis in People Living in Northeast Vietnam / Y.T.T. Hoang, Y.T. Nguyen, L.T. Vu [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2023. – Vol. 24 (6). – P. 2073-2082. – DOI: [10.31557/APJCP.2023.24.6.2073](https://doi.org/10.31557/APJCP.2023.24.6.2073)

56. Association of habitual alcohol intake with risk of cardiovascular disease / K.J. Biddinger, C.A. Emdin, M.E. Haas [et al.] // JAMA Netw Open. – 2022. – Vol. 5(3). – P. e223849. – DOI: [10.1001/jamanetworkopen.2022.3849](https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.3849)

57. Association of heavy alcohol intake and *ALDH2* rs671 polymorphism with hepatocellular carcinoma and mortality in patients with hepatitis B virus-related cirrhosis / M.C. Tsai, S.S. Yang, C.C. Lin [et al.] // JAMA Netw Open. – 2022. – Vol. 5 (7). – P. e2223511. –DOI: [10.1001/jamanetworkopen.2022.23511](https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.23511)

58. Association of polymorphism in alcohol dehydrogenase and interaction with other / A.J. Khan, Q. Husain, G. Choudhuri, D. Parmar // Drug Alcohol Depen. – 2010. – Vol. 109 (1-3). – P. 190-7. – DOI: [10.1016/j.drugalcdep.2010.01.010](https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2010.01.010)

59. Badylak, S.F. Extracellular matrix as a biological scaffold material: structure and function / S.F. Badylak, D.O. Freytes, T.W. Gilbert // Acta Biomater. – 2009. – Vol. 5. – P. 1-13. –DOI: [10.1016/j.actbio.2008.09.013](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.013)

60. Baraona, E. Effects of ethanol on lipid metabolism / E. Baraona, C.S. Lieber // J Lipid Res. –1979. – Vol. 20 (3). – P. 289-315.

61. Bariatric surgery and the risk of alcohol-related cirrhosis and alcohol misuse / J.L. Mellinger, K. Shedden, G.S. Winder [et al.] // Liver Int. – 2021. – Vol. 41 (5). – P. 1012–9. –DOI: [10.1111/liv.14805](https://doi.org/10.1111/liv.14805)

62. Bariatric surgery is associated with alcohol-related liver disease and psychiatric disorders associated with AUD / E. Alvarado-Tapias, D. Marti-Aguado, K. Kennedy [et al.] // Obes Surg. – 2023. – Vol. 33 (5). – P. 1494-505. – DOI: [10.1007/s11695-023-06490-w](https://doi.org/10.1007/s11695-023-06490-w)

63. Bataller, R. Liver fibrosis in alcoholic liver disease / R. Bataller, B. Gao // Semin Liver Dis. – 2015. – Vol. 35. – P. 146-156. – DOI: [10.1055/s-0035-1550054](https://doi.org/10.1055/s-0035-1550054)

64. Bedossa, P. Liver extracellular matrix in health and disease / P. Bedossa, V. Paradis // J Pathol. – 2003. – Vol.200. – P. 504-515. – DOI: [10.1002/path.1397](https://doi.org/10.1002/path.1397)

65. Binge drinking induces an acute burst of markers of hepatic fibrogenesis (PRO-C3) / N. Torp, M. Israelsen, M.J. Nielsen [et al.] // Liver Int. – 2022. – Vol. 42 (1). – P. 92-101. –DOI: [10.1111/liv.15120](https://doi.org/10.1111/liv.15120)

66. Brief report: Genetics of alcoholic cirrhosis-GenomALC multinational study / J.B. Whitfield, K. Rahman, P.S. Haber [et al.] // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2015. – Vol. 39. – P. 836-842. – DOI: [10.1111/acer.12693](https://doi.org/10.1111/acer.12693)

67. Bruckner, P. Suprastructures of extracellular matrices: paradigms of functions controlled by aggregates rather than molecules / P. Bruckner // *Cell Tissue Res.* – 2010. – Vol. 339. – P. 7-18. – DOI: [10.1007/s00441-009-0864-0](https://doi.org/10.1007/s00441-009-0864-0)

68. Burden of liver diseases in the world / S.K. Asrani, H. Devarbhavi, J. Eaton, P.S. Kamath // *J Hepatol.* – 2019. – Vol. 70. – P. 151-71. – DOI: [10.1016/j.jhep.2018.09.014](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.014).

69. Butterworth, R.F. Beneficial effects of L-ornithine L-aspartate for prevention of overt hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: a systematic review with meta-analysis / R.F. Butterworth // *Metabolic brain disease.* – 2020. – Vol. 35. – Vol. 1. – P. 75-81. – DOI: [10.1007/s11011-019-00463-8](https://doi.org/10.1007/s11011-019-00463-8)

70. Cabezas, J. Biomarkers for monitoring alcohol use / J. Cabezas, M.R. Lucey, R. Bataller // *Clin Liver Dis (Hoboken).* – 2016. – Vol. 8 (3). – P. 59-63. – DOI: [10.1002/cld.571](https://doi.org/10.1002/cld.571)

71. Can gene therapy be used to prevent cancer? Gene therapy for aldehyde dehydrogenase 2 deficiency / R.A. Montel, C. Munoz-Zuluaga, K.M. Stiles, R.G. Crystal // *Cancer Gene Ther.* – 2022. – Vol. 29. – P. 889-896. – DOI: [10.1038/s41417-021-00399-1](https://doi.org/10.1038/s41417-021-00399-1)

72. cDNA sequence coding for human kidney catalase / G.I. Bell, R.C. Najarian, G.T. Mullenbach, R.A. Hallewell // *Nucleic Acids Res.* – 1986. – Vol. 14 (13). – P. 5561-2.

73. Cederbaum, A.I. Alcohol metabolism / A.I. Cederbaum // *Clinics in Liver Disease.* – 2012. – Vol.16 (4). – P. 667-685. – DOI: [10.1016/j.cld.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.cld.2012.08.002)

74. Chen, C.M. Liver cirrhosis mortality in the United States: national, state, and regional trends, 2000–2019 / C.M. Chen, Y.-H. Yoon // *National Institutes of Health: Sterling, VA.* – 2022. – 92 c.

75. Chrostek, L. Liver fibrosis markers in alcoholic liver disease / L. Chrostek, A. Panasiuk // *World J Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20. – P. 8018-8023. – DOI: [10.3748/wjg.v20.i25.8018](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i25.8018)

76. Clinical and microbiological features of infection in alcoholic hepatitis: An international cohort study / R. Parker, G. Im, F. Jones [et al.] // *J Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 52 (11). – P. 1192-200. – DOI: [10.1007/s00535-017-1336-z](https://doi.org/10.1007/s00535-017-1336-z)

77. Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis / M.A. Karsdal, S.J. Daniels, S.H. Nielsen [et al.] // *Liver International.* – 2020. – Vol. 40. – P. 736-750. – DOI: [10.1111/liv.14390](https://doi.org/10.1111/liv.14390).

78. Collagen IV is essential for basement membrane stability but dispensable for initiation of its assembly during early development / E. Pöschl, U. Schlötzer-Schrehardt, B. Brachvogel [et al.] // *Development.* – 2004. – Vol. 13. – P. 1619-1628. – DOI: [10.1242/dev.01037](https://doi.org/10.1242/dev.01037)

79. Combined effect of *ADH1B* RS1229984, RS2066702 and *ADH1C* RS1693482/RS698 alleles on alcoholism and chronic liver diseases / R. Tyth, S. Fiatal, B. Petrovski [et al.] // *Disease markers.* – 2011. – Vol. 31 (5). – P. 267-277. – DOI: [10.3233/DMA-2011-0828](https://doi.org/10.3233/DMA-2011-0828)

80. Correlation between serum liver fibrosis markers and early gastroesophageal varices among patients with compensated liver cirrhosis: a cross-sectional analysis / L. Mei, Y. Ma, L. Zhao [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2022. – Vol. 22 (1). – P. 515. – DOI: [10.1186/s12876-022-02546-w](https://doi.org/10.1186/s12876-022-02546-w)

81. Corticosteroid plus pentoxifylline is not better than corticosteroid alone for improving survival in severe alcoholic hepatitis (COPE trial) / S.S. Sidhu, O. Goyal, P. Singla [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2012. – Vol. 57 (6). – P. 1664-71. – DOI: [10.1007/s10620-012-2097-4](https://doi.org/10.1007/s10620-012-2097-4)

82. *CYP2E1* genetic polymorphism with dietary, tobacco, alcohol habits, *H. pylori* infection status and susceptibility to stomach cancer in Mizoram, India / M. Malakar, K.R. Devi, R.K. Phukan [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* – 2014. – Vol.15. – P. 8815-8822. – DOI: [10.7314/apjcp.2014.15.20.8815](https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.20.8815)

83. Detection of a common mutation of the catalase gene in Japanese acatalasemic patients / Y. Kishimoto, Y. Murakami, K. Hayashi [et al.] // Hum Genet. – 1992. – Vol. 88 (5). – P. 487-90. – DOI: [10.1007/BF00219333](https://doi.org/10.1007/BF00219333)

84. Diagnosis and Treatment of alcohol-associated liver diseases: 2019 Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases / D.W. Crabb, G.Y. Im, G. Szabo [et al.] // Hepatology. – 2020. – Vol. 71. – P. 306-333. – DOI: [10.1002/hep.30866](https://doi.org/10.1002/hep.30866)

85. Diagnosis, staging, and management of hepatocellular carcinoma: 2018 practice guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases / J.A. Marrero, L.M. Kulik, C.B. Sirlin [et al.] // Hepatology. – 2018. – Vol. 68. – P. 723-750. – DOI: [10.1002/hep.29913](https://doi.org/10.1002/hep.29913)

86. Diagnostic accuracy of biomarkers of alcohol use in patients with liver disease: A systematic review / J. Arnts, B.T.K. Vanlerberghe, S. Roozen [et al.] // Alcohol Clin Exp Res. – 2021. – Vol. 45 (1). – P. 25-37. – DOI: [10.1111/acer.14512](https://doi.org/10.1111/acer.14512)

87. Diagnostic performance of collagen IV and laminin for the prediction of fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis C patients: A multicenter study / H.A. El-Mezayen, S. Habib, H.F. Marzok [et al.] // Eur J Gastroenterol Hepatol. – 2015. – Vol. 27 (4). – P. 378-85. – DOI: [10.1097/MEG.0000000000000298](https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000298)

88. Distribution of *ADH2* and *ALDH2* genotypes in different populations / H.W. Goedde, D.P. Agarwal, G. Fritze [et al.] // Hum Genet. – 1992. – Vol. 88. – P. 344-346. – DOI: [10.1007/BF00197271](https://doi.org/10.1007/BF00197271)

89. Disturbed Vitamin A Metabolism in Non-Alcoholic F Liver Disease (NAFLD) / A. Saeed; R.P.F. Dullaart, T.C.M.A. Schreuder [et al.] // Nutrients – 2017. – Vol. 10. – P. 29. – DOI: [10.3390/nu10010029](https://doi.org/10.3390/nu10010029)

90. Early switch to pentoxifylline in patients with severe alcoholic hepatitis is inefficient in nonresponders to corticosteroids / A. Louvet, E. Diaz, S. Dharancy [et al.] // J Hepatol. – 2008. – Vol. 48 (3). – P. 465-70. – DOI: [10.1016/j.jhep.2007.10.010](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.10.010)

91. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of alcohol-related liver disease // *Journal of Hepatology*. – 2018. – Vol. 69 (1). – P. 154–181. – DOI: [10.1016/j.jhep.2018.03.018](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.018)

92. Edenberg, H.J. Alcohol dehydrogenases, aldehyde dehydrogenases, and alcohol use disorders: a critical review / H.J. Edenberg, J.N. McClintick // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. – 2018. – Vol. 42. – P. 2281-2297. – DOI: [10.1111/acer.13904](https://doi.org/10.1111/acer.13904)

93. Effect of body mass index and alcohol consumption on liver disease: Analysis of data from two prospective cohort studies / C.L. Hart, D.S. Morrison, G.D. Batty [et al.] // *BMJ*. – 2010. – Vol. 340. – P. c1240. – DOI: [10.1136/bmj.c1240](https://doi.org/10.1136/bmj.c1240)

94. Effect of rifaximin on infections, acute-on-chronic liver failure and mortality in alcoholic hepatitis: A pilot study (RIFA-AH) / C. Jiménez, M. Ventura-Cots, M. Sala [et al.] // *Liver Int*. – 2022. – Vol. 42 (5). – P. 1109–20. – DOI: [10.1111/liv.15207](https://doi.org/10.1111/liv.15207)

95. Effect of single-nucleotide polymorphisms in *ADH 1B*, *ADH 4*, *ADH 1C*, *OPRM 1*, *DRD 2*, *BDNF*, and *ALDH 2* genes on alcohol dependence in a Caucasian population, *Pharmacology Research Perspectives* / M.S. Katsarou, K. Karakonstantis, N. Demertzis [et al.] // *Pharmacol Res Perspect*. – 2017. – Vol. 5(4). – e00326. – DOI: [10.1002/prp2.326](https://doi.org/10.1002/prp2.326)

96. Effects of changing glutamate 487 to lysine in rat and human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase. A model to study human (Oriental type) class 2 aldehyde dehydrogenase / J. Farres, X. Wang, K. Takahashi [et al.] // *J Biol Chem*. – 1994. – Vol. 269 (19). – P. 13854-60.

97. Epidemiology of alcohol-associated liver disease / S. Han, Z. Yang, T. Zhang [et al.] // *Clin Liver Dis*. – 2021. – Vol. 25. – P. 483–92. – DOI: [10.1016/j.cld.2021.03.009](https://doi.org/10.1016/j.cld.2021.03.009)

98. ESPEN practical guideline: Clinical nutrition in liver disease / S.C. Bischoff, W. Bernal, S. Dasarathy [et al.] // *Clin Nutr*. – 2020. – Vol. 39 (12). – P. 3533-62. – DOI: [10.1016/j.clnu.2020.09.001](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.09.001)

99. Ethanol-induced cytochrome P4502E1 causes carcinogenic etheno-DNA lesions in alcoholic liver disease / Y. Wang, G. Millonig, J. Nair [et al.] // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 50 (2). – P. 453-61. – DOI: [10.1002/hep.22978](https://doi.org/10.1002/hep.22978)

100. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up / M. Ekstedt, H. Hagström, P. Nasr [et al.] // *Hepatology*. – 2015. – Vol. 61 (5). – P. 1547–54. – DOI: [10.1002/hep.27368](https://doi.org/10.1002/hep.27368)

101. Friend or foe? The elusive role of hepatic stellate cells in liver cancer / B. Cogliati, C.N. Yashaswini, S. Wang [et al.] // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. – 2023. – Vol. 20. – P. 18-29. – DOI: [10.1038/s41575-023-00821-z](https://doi.org/10.1038/s41575-023-00821-z)

102. Functional assessment of human alcohol dehydrogenase family in ethanol metabolism: Significance of first-pass metabolism / S.L. Lee, G.Y. Chau, C.T. Yao [et al.] // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. – 2006. – Vol. 30. – P. 1132-1142. – DOI: [10.1002/hep.22978](https://doi.org/10.1002/hep.22978)

103. Functional PstI/RsaI polymorphisms in the *CYP2E1* gene among south Indian populations / S. Lakkakula, R. Maram, A.K. Munirajan [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2013. – Vol.14. – P. 179-182.

104. Functional variants in *ADH1B* and *ALDH2* coupled with alcohol and smoking synergistically enhance esophageal cancer risk / R. Cui, Y. Kamatani, A. Takahashi [et al.] // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol.137. – P. 1768–1775. – DOI: [10.1053/j.gastro.2009.07.070](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.07.070)

105. Funk, S.D. Alport syndrome and Pierson syndrome: diseases of the glomerular basement membrane / S.D. Funk, M.-H. Miner, J.H. Lin // *Matrix Biol*. – 2018. – Vol. 71-72. – P. 250-261. – DOI: [10.1016/j.matbio.2018.04.008](https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.04.008)

106. Fuster, D. Alcohol use in patients with chronic liver disease / D. Fuster, J.H. Samet // *N Engl J Med*. – 2018. – Vol. 379. – P. 1251–1261. – DOI: [10.1056/NEJMra1715733](https://doi.org/10.1056/NEJMra1715733)

107. Gao, B. Alcoholic liver disease: Pathogenesis and new therapeutic targets / B. Gao, R. Bataller // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 141 (5). – P. 1572-85. – DOI: [10.1053/j.gastro.2011.09.002](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.09.002)

108. Genetic Polymorphism of Alcohol Dehydrogenase 2 (*ADH1B*) in Association with Alcohol Consumption in Nepalese Population / R. Ramtel, V.K. Sharma, R. Pathak [et al.] // *Fortune Journal of Health Sciences*. – 2023. – Vol. 6. – P. 527-534.

109. Genetic polymorphism of alcohol dehydrogenase in europeans: the *ADH2*2* allele decreases the risk for alcoholism and is associated with *ADH3*1* / E. Borràs, C. Coutelle, A. Rosell [et al.] // *Hepatology*. – 2000. – Vol. 31 (4). – P. 984-989. –DOI: [10.1053/he.2000.5978](https://doi.org/10.1053/he.2000.5978)

110. Genetic polymorphisms of *ADH1B*, *ADH1C* and *ALDH2* in Turkish alcoholics: lack of association with alcoholism and alcoholic cirrhosis / S. Vatansever, F. Tekin, E. Salman [et al.] // *Bosn J. Basic Med. Sci*. – 2015. – Vol. 15 (2). – P. 37-41. –DOI: [10.17305/bjbms.2015.242](https://doi.org/10.17305/bjbms.2015.242)

111. Genetic polymorphisms of *ALDH2* and *ADH2* are not associated with risk of hepatocellular carcinoma among East Asians / D. Zhou, L. Xiao, Y. Zhang [et al.] // *Tumour Biol*. – 2012. – Vol. 33. – P. 841–846. – DOI: [10.1007/s13277-011-0309-8](https://doi.org/10.1007/s13277-011-0309-8)

112. Genetic variability in *CYP2E1* and catalase gene among currently and formerly alcohol-dependent male subjects / A. Plemenitas, M. Kastelic, S. Porcelli [et al.] // *Alcohol and Alcoholism*. – 2015. – Vol. 50 (2). – P. 140-145. – DOI: [10.1093/alcalc/agu088](https://doi.org/10.1093/alcalc/agu088)

113. Genome-wide association study and meta-analysis on alcohol-associated liver cirrhosis identifies genetic risk factors / T.H. Schwantes-An, R. Darlay, P. Mathurin [et al.] // *Hepatology*. – 2021. – Vol. 73. – P. 1920-1931. – DOI: [10.1002/hep.31535](https://doi.org/10.1002/hep.31535)

114. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders / J. Rehm, C. Mathers, S. Popova [et al.] // *Lancet*. – 2009. – Vol. 373 (9682). – P. 2223-33. – DOI: [10.1016/S0140-6736\(09\)60746-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60746-7)

115. GLOBAL STATUS REPORT on noncommunicable diseases 2014 [Electronic resource] / WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. – 2014. – Access mode: <https://docs.yandex.ru/docs>
116. Gomes, R.N. The bright side of fibroblasts: Molecular signature and regenerative cues in major organs. / R.N. Gomes, F. Manuel, D.S. Nascimento // NPJ Regen Med. – 2021. – Vol. 6 (43). – DOI: [10.1038/s41536-021-00153-z](https://doi.org/10.1038/s41536-021-00153-z)
117. Góth, L. A Novel Catalase Mutation (a GA Insertion) Causes the Hungarian Type of Acatlasemia / L. Góth, A. Shemirani, T. Kalmár // Blood Cell Mol Dis. – 200. – Vol. 26 (2). – P. 151-4. – DOI: [10.1006/bcmd.2000.0288](https://doi.org/10.1006/bcmd.2000.0288)
118. Greenfield, N.J. Two aldehyde dehydrogenases from human liver. Isolation via affinity chromatography and characterization of the isozymes / N.J. Greenfield, R. Pietruszko // Biochim Biophys Acta. – 1977. – Vol. 483. – P. 35-45. – DOI: [10.1016/0005-2744\(77\)90005-5](https://doi.org/10.1016/0005-2744(77)90005-5)
119. Hepatocellular carcinoma incidence in alcohol-associated cirrhosis: Systematic review and meta-analysis / D.Q. Huang, D.J.H. Tan, C.H. Ng [et al.] // Clin Gastroenterol Hepatol. – 2023. – Vol. 21. – P. 1169–1177. – DOI: [10.1016/j.cgh.2022.06.032](https://doi.org/10.1016/j.cgh.2022.06.032)
120. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism / M. Frezza, C. di Padova, G. Pozzato [et al.] // N Engl J Med. –1990. – Vol. 322 (2). – P. 95–9. – DOI: [10.1056/NEJM199001113220205](https://doi.org/10.1056/NEJM199001113220205)
121. High incidence of *ADH2*1/ALDH2*1* genes among Japanese alcohol dependents and patients with alcoholic liver disease / F. Tanaka, Y. Shiratori, O. Yokosuka [et al.] // Hepatology. –1996. – Vol. 23. – P. 234-9. – DOI: [10.1053/jhep.1996.v23.pm0008591846](https://doi.org/10.1053/jhep.1996.v23.pm0008591846)
122. Histological parameters and alcohol abstinence determine long-term prognosis in patients with alcoholic liver disease / C. Lackner, W. Spindelboeck, J. Haybaeck [et al.] // J Hepatol. – 2017. – Vol. 66. – P. 610-618. – DOI: [10.1016/j.jhep.2016.11.011](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.11.011)

123. Hoog, J.O. Mammalian alcohol dehydrogenases: A comparative investigation at gene and protein levels / J.O. Hoog, L.J. Ostberg // *Chem Biol Interact.* – 2011. – Vol. 191 (1-3). – P. 2-7. – DOI: [10.1016/j.cbi.2011.01.028](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.01.028)

124. Hopkins, D.R. The bone morphogenetic protein 1 / Tolloid-like metalloproteinases / D.R. Hopkins, S. Keles, D.S. Greenspan // *Matrix Biol.* – 2007. – Vol. 26. – P. 508-523. – DOI: [10.1016/j.matbio.2007.05.004](https://doi.org/10.1016/j.matbio.2007.05.004)

125. Hsu, L.C. Genomic structure of the human mitochondrial aldehyde dehydrogenase gene / L.C. Hsu, R.E. Bendel, A. Yoshida // *Genomics.* – 1988. – Vol. 2 (1). – P. 57-65. – DOI: [10.1016/0888-7543\(88\)90109-7](https://doi.org/10.1016/0888-7543(88)90109-7)

126. Human aldehyde dehydrogenase genes: Alternatively spliced transcriptional / W.J. Black, D. Stagos, S.A. Marchitti [et al.] // *Pharmacogenet Genomics.* – 2009. – Vol. 19 (11). – P. 893-902. – DOI: [10.1097/FPC.0b013e3283329023](https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283329023)

127. Identification of a cytochrome P450 gene by reverse transcription – PCR using / Z. Shen, R.L. Wells, J. Liu, M.M. Elkind // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1993. – Vol. 90 (24). – P. 11483-7.

128. Identification of optimal therapeutic window for steroid use in severe alcohol-associated hepatitis: A worldwide study / J.P. Arab, L.A. Díaz, N. Baeza [et al.] // *J Hepatol.* – 2021. – Vol. 75 (5). – P. 1026-33. – DOI: [10.1016/j.jhep.2021.06.019](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.06.019)

129. Impact of acute alcohol consumption on circulating microbiome in asymptomatic alcohol-related liver disease / M. Israelsen, C. Alvarez-Silva, B.S. Madsen [et al.] // *Gut.* – 2024. – Vol. 73 (6). – P. 1041-1044. – DOI: [10.1136/gutjnl-2023-330360](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2023-330360)

130. Impact of alcohol abstinence on the risk of hepatocellular carcinoma in patients with alcohol-related liver cirrhosis / M. Rodriguez, M.L. Gonzalez-Diequez, M. Varela [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 116. – P. 2390–2398. – DOI: [10.14309/ajg.0000000000001399](https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001399)

131. Impact of alcohol on the progression of HCV-related liver disease: A systematic review and meta-analysis / L. Llamosas-Falcón, K.D. Shield, M.

Gelovany [et al.] // J Hepatol. –2021. – Vol. 75 (3). – P. 536-46. – DOI: [10.1016/j.jhep.2021.04.018](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.04.018)

132. In patients with severe alcoholic hepatitis, prednisolone increases susceptibility to infection and infection-related mortality, and is associated with high circulating levels of bacterial DNA / N. Vergis, S.R. Atkinson, S. Knapp [et al.] // Gastroenterology. – 2017. – Vol. 152 (5). – P. 1068-77. – DOI: [10.1053/j.gastro.2016.12.019](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.12.019)

133. Incidence and mortality of alcoholic hepatitis in Denmark 1999–2008: a nationwide population based cohort study / T.D. Sandahl, P. Jepsen, K.L. Thomsen, H. Vilstrup // J Hepatol. – 2011. – Vol. 54. – P. 760-764. – DOI: [10.1016/j.jhep.2010.07.016](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.07.016)

134. Increased risk for hepatocellular carcinoma persists up to 10 years after HCV eradication in patients with baseline cirrhosis or high FIB-4 scores / G.N. Ioannou, L.A. Beste, P.K. Green [et al.] // Gastroenterology. – 2019. – Vol. 157. – P. 1264–78. – DOI: [10.1053/j.gastro.2019.07.033](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.07.033)

135. Increasing burden of acute-on-chronic liver failure among alcohol-associated liver disease in the young population in the United States / A.K. Singal, S. Arora, R.J. Wong [et al.] // Am J Gastroenterol. – 2020. – Vol.115. – P. 88-95. – DOI: [10.14309/ajg.00000000000000411](https://doi.org/10.14309/ajg.00000000000000411)

136. Influence of alcohol consumption and gene polymorphisms of *ADH2* and *ALDH2* on hepatocellular carcinoma in a Japanese population / T. Sakamoto, M. Hara, Y. Higaki [et al.] // Int J Cancer. – 2006. – Vol.118. – P. 1501-1507. – DOI: [10.1002/ijc.21505](https://doi.org/10.1002/ijc.21505)

137. Interaction between alcohol consumption and metabolic syndrome in predicting severe liver disease in the general population / F. Aberg, J. Helenius-Hietala, P. Puukka [et al.] // Hepatology. – 2018. – Vol. 67 (6). – P. 2141-9. – DOI: [10.1002/hep.29631](https://doi.org/10.1002/hep.29631)

138. Interaction of alcohol intake and cofactors on the risk of cirrhosis / T. Stroffolini, G. Cotticelli, E. Medda [et al.] // Liver Int. – 2010. – Vol. 30 (6). – P. 867-70. –DOI: [10.1111/j.1478-3231.2010.02261.x](https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02261.x)

139. Jain, K.S. Genetic Polymorphism and Alcohol Metabolism / K.S. Jain, S. Sedha, M. Mishra // *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*. – 2019. – DOI:[10.5772/intechopen.88907](https://doi.org/10.5772/intechopen.88907)
140. Joint associations of adiposity and alcohol consumption with liver disease-related morbidity and mortality risk: Findings from the UK biobank / E. Inan-Eroglu, B.H. Huang, M.N. Ahmadi [et al.] // *Eur J Clin Nutr*. – 2022. – Vol. 76 (1). – P. 74–83. – DOI: [10.1038/s41430-021-00923-4](https://doi.org/10.1038/s41430-021-00923-4)
141. Kayaalti, Z. Distribution of *ADH1B*, *ALDH2*, *CYP2E1** 6, and *CYP2E1** 7B genotypes in Turkish population / Z. Kayaalti, T. Soylemezoglu // *Alcohol*. – 2010. – Vol. 44. – P. 415-423. – DOI: [10.1016/j.alcohol.2010.06.002](https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.06.002)
142. Koechling, U.M. Relationship between blood catalase activity and drinking history in a human / U.M. Koechling, Z. Amit // *Alcohol*. –1992. – Vol. 27 (2). – P. 181-8.
143. Lee, E. Epidemiology and trends of alcohol use disorder and alcohol-associated liver disease / E. Lee, H. Navadurong, S. Liangpunsakul // *Clin Liver Dis (Hoboken)*. – 2023. – Vol. 22. – P. 99–102. – DOI: [10.1097/CLD.0000000000000058](https://doi.org/10.1097/CLD.0000000000000058)
144. Leung, T.-M. *CYP2E1* and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease / T.-M. Leung, N. Nieto // *Journal of Hepatology*. – 2013. – Vol. 58 (2). – P. 395-398. – DOI: [10.1016/j.jhep.2012.08.018](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.08.018)
145. Li, D. Further clarification of the contribution of the *ADH1C* gene to vulnerability of alcoholism and selected liver diseases / D. Li, H. Zhao, J. Gelernter // *Human Genetics*. – 2012. – Vol. 131. – P. 1361-1374. – DOI: [10.1007/s00439-012-1163-5](https://doi.org/10.1007/s00439-012-1163-5)
146. Lieber, C.S. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism / C.S. Lieber // *Clin Chim Acta*. – 1997. – Vol. 257 (1). – P. 59-84. – DOI: [10.1016/s0009-8981\(96\)06434-0](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(96)06434-0)
147. Liver alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase in the Japanese: Isozyme / S. Harada, S. Misawa, D.P. Agarwal, H.W. Goedde // *Am J Hum Genet*. – 1980. – Vol. 32 (1). –P. 8-15.

148. Liver fibrosis, but no other histologic features, is associated with long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease / P. Angulo, D.E. Kleiner, S. Dam-Larsen [et al.] // *Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 149. – P. 389-397. – DOI: [10.1053/j.gastro.2015.04.043](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.04.043)

149. Liver transplantation 2023: Status report, current and future challenges / N.A. Terrault, C. Francoz, M. Berenguer [et al.] // *Clin Gastroenterol Hepatol*. – 2023. – Vol. 21. – P. 2150-2166. – DOI: [10.1016/j.cgh.2023.04.005](https://doi.org/10.1016/j.cgh.2023.04.005).

150. L-ornithine L-aspartate in acute treatment of severe hepatic encephalopathy: A double-blind randomized controlled trial / A. Jain, B.C. Sharma, B. Mahajan [et al.] // *Hepatology*. – 2022. – Vol. 75 (5). – P. 1194-1203. – DOI: [10.1002/hep.32255](https://doi.org/10.1002/hep.32255).

151. Low levels of alcohol consumption, obesity, and development of fatty liver with and without evidence of advanced fibrosis / Y. Chang, S. Ryu, Y. Kim [et al.] // *Hepatology*. – 2020. – Vol. 71 (3). – P. 861-73. – DOI: [10.1002/hep.30867](https://doi.org/10.1002/hep.30867)

152. Lu, S.C. S-adenosylmethionine in liver health, injury, and cancer / S.C. Lu, J.M. Mato // *Physiol Rev*. – 2012. – Vol. 92. – P. 1515-42. – DOI: [10.1152/physrev.00047.2011](https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2011)

153. Main drivers of outcome differ between short term and long term in severe alcoholic hepatitis: A prospective study / A. Louvet, J. Labreuche, F. Artru [et al.] // *Hepatology*. – 2017. – Vol. 66 (5). – P. 1464–73. – DOI: [10.1002/hep.29240](https://doi.org/10.1002/hep.29240)

154. Management of alcoholic hepatitis: A clinical perspective / P. Kasper, S. Lang, H.M. Steffen, M. Demir // *Liver Int*. – 2023. – Vol. 43 (10). – P. 2078-2095. – DOI: [10.1111/liv.15701](https://doi.org/10.1111/liv.15701).

155. Markers of collagen remodeling detect clinically significant fibrosis in chronic hepatitis C patients / M.J. Nielsen, K. Kazankov, D.J. Leeming [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10. – P. 1-12. – DOI: [10.1371/journal.pone.0137302](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137302)

156. McClain, C.J. Increased tumor necrosis factor production by monocytes in alcoholic hepatitis / C.J. McClain, D.A. Cohen // *Hepatology*. – 1989. – Vol. 9 (3). – P. 349-51. – DOI: [10.1002/hep.1840090302](https://doi.org/10.1002/hep.1840090302)

157. Measurement of CO3-610, a potential liver biomarker derived from matrix metalloproteinase-9 degradation of collagen type III, in a rat model of reversible carbon-tetrachloride-induced fibrosis / E. Vassiliadis, D. Vang Larsen, R.E. Clausen [et al.] // *Biomark Insights*. – 2011. – Vol. 6. – P. 1-10. – DOI: [10.4137/IMT.S6347](https://doi.org/10.4137/IMT.S6347)

158. Metabolic Reprogramming Liver Fibrosis / M.E. Delgado, B.I. Cárdenas, N. Farran, M. Fernandez // *Cells*. – 2021. – Vol. 10(12). – P. 3604. – DOI: [10.3390/cells10123604](https://doi.org/10.3390/cells10123604)

159. MMP mediated degradation of type IV collagen alpha 1 and alpha 3 chains reflects basement membrane remodeling in experimental and clinical fibrosis—validation of two novel biomarker assays / J.M. Sand, L. Larsen, C. Hogaboam [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – P. e84934. – DOI: [10.1371/journal.pone.0084934](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084934)

160. MMP mediated type V collagen degradation (C5M) is elevated in ankylosing spondylitis / S.S. Veidal, D.V. Larsen, X. Chen [et al.] // *Clin Biochem*. – 2012. – Vol. 45. – P. 541- 546. – DOI: [10.1016/j.clinbiochem.2012.02.007](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.02.007)

161. Moreno, C. Non-invasive diagnosis and biomarkers in alcohol-related liver disease / C. Moreno, S. Mueller, G. Szabo // *J Hepatol*. – 2019. – Vol. 70 (2). – P. 273-83. – DOI: [10.1016/j.jhep.2018.11.025](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.11.025)

162. Mycophenolate mofetil reduces myofibroblast infiltration and collagen III deposition in rat remnant kidney / C. Badid, M. Vincent, B. Mcgregor [et al.] // *Kidney Int*. – 2000. – Vol. 58. – P. 51-61. – DOI: [10.1046/j.1523-1755.2000.00140.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00140.x)

163. Nguyen, D. Noninvasive assessment of liver fibrosis / D. Nguyen, J.A. Talwalkar // *Hepatology*. – 2011. – Vol. 53. – P. 2107–2110. – DOI: [10.1002/hep.24401](https://doi.org/10.1002/hep.24401)

164. Nicotine induces fibrogenic changes in human liver via nicotinic acetylcholine receptors expressed on hepatic stellate cells / J. Soeda, M. Morgan, C. McKee [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2012. – Vol. 417 (1). – P. 17-22. – DOI: [10.1016/j.bbrc.2011.10.151](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.10.151)

165. No effect in alcoholic hepatitis of gut-selective, broad-spectrum antibiotics on bacterial translocation or hepatic and systemic inflammation / S. Støy, T.L. Laursen, L.L. Eriksen [et al.] // *Clin Transl Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 12 (2). – P. e00306.

166. Noninvasive assessment of liver fibrosis / S.M. Martínez, G. Crespo, M. Navasa, X. Forns // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 53. – P. 325-335. – DOI: [10.1002/hep.24013](https://doi.org/10.1002/hep.24013)

167. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease / R. Lombardi, E Buzzetti, D.Roccarina, E.A. Tsochatzis // *World J Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 21 (39). – P. 11044-11052. – DOI: [10.3748/wjg.v21.i39.11044](https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i39.11044)

168. Novel insights into the function and dynamics of extracellular matrix in liver fibrosis / M.A. Karsdal, T. Manon-Jensen, F. Genovese [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2015. – Vol. 308. –P. G807-G830. – DOI: [10.1152/ajpgi.00447.2014](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00447.2014)

169. Obesity and alcohol synergize to increase the risk of incident hepatocellular carcinoma in men / R. Loomba, H.I. Yang, J. Su [et al.] // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2010. – Vol. 8 (10). – P. 891– 898. – DOI: [10.1016/j.cgh.2010.06.027](https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.06.027)

170. Orman, E.S. Alcoholic liver disease: Pathogenesis, management, and novel targets for therapy / E.S. Orman, G. Odena, R. Bataller // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2013. – Vol. 28, Suppl 1. – P. 77-84. – DOI: [10.1111/jgh.12030](https://doi.org/10.1111/jgh.12030)

171. Outcomes of liver transplantation for non-alcoholic steatohepatitis: A European Liver Transplant Registry study / D. Haldar, B. Kern, J. Hodson [et al.] // *J Hepatol.* – 2019. – Vol. 71. – P. 313-322. – DOI: [10.1016/j.jhep.2019.04.011](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.04.011)

172. Overview of the role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase and their variants in the genesis of alcohol-related pathology / D.W. Crabb, M. Matsumoto, D. Chang, M. You // *Proc Nutr Soc.* – 2004. – Vol. 63 (1). – P. 49-63. – DOI: [10.1079/pns2003327](https://doi.org/10.1079/pns2003327)

173. Pares, A. Patología orgánica / A. Pares, J. Caballería // Adicciones. – 2002. – Vol. 14. – P. 17.

174. Persson, B. Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families / B. Persson, J. Hedlund, H. Jornvall // Cell Mol Life Sci. – 2008. – Vol. 65 (24). – P. 3879-94. – DOI: [10.1007/s00018-008-8587-z](https://doi.org/10.1007/s00018-008-8587-z)

175. Plasma Pro-C3 (N-terminal type III collagen propeptide) predicts fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C / M.J. Nielsen, S.S. Veidal, M.A. Karsdal [et al.] // Liver Int. – 2015. – Vol. 35. – P. 429-437. – DOI: [10.1111/liv.12700](https://doi.org/10.1111/liv.12700)

176. Polymorphism in alcohol-metabolizing enzymes, glutathione S-transferases and apolipoprotein E and susceptibility to alcohol-induced cirrhosis and chronic pancreatitis / A. Frenzer, W.J. Butler, I.D. Norton [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2002. – Vol.17 (2). – P. 177-182. – DOI: [10.1046/j.1440-1746.2002.02670.x](https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2002.02670.x)

177. Polymorphism of alcohol dehydrogenase, alcohol and aldehyde dehydrogenase / R.E. Poupon, B. Nalpas, C. Coutelle [et al.] // Hepatology. – 1992. – Vol.15 (6). – P. 1017-22. – DOI: [10.1002/hep.1840150608](https://doi.org/10.1002/hep.1840150608)

178. Polymorphisms in glutathione S-transferases *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* and cytochromes P450 *CYP2E1* and *CYP1A1* and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics / R.V. Burim, R. Canalle, A.L.K. Martinelli [et al.] // Mutagenesis. – 2004. – Vol. 19. – P. 291-298. – DOI: [10.1093/mutage/geh034](https://doi.org/10.1093/mutage/geh034)

179. Pooled analysis of alcohol dehydrogenase genotypes and head and neck cancer: a HuGE review / P. Brennan, S. Lewis, M. Hashibe [et al.] // American journal of epidemiology. – 2004. – Vol. 159. – P. 1-16. – DOI: [10.1093/aje/kwh003](https://doi.org/10.1093/aje/kwh003)

180. Powell, W.J. Duration of survival in patients with Laennec's cirrhosis. Influence of alcohol withdrawal, and possible effects of recent changes in general management of the disease / W.J. Powell, G. Klatskin // Am J Med. – 1968. – Vol. 44. – P. 406-420. – DOI: [10.1016/0002-9343\(68\)90111-3](https://doi.org/10.1016/0002-9343(68)90111-3)

181. PREDICT identifies precipitating events associated with the clinical course of acutely decompensated cirrhosis / J. Trebicka, J. Fernandez, M. Papp [et al.] // *J Hepatol.* – 2021. – Vol.74. – P. 1097-1108. – DOI:10.1016/j.jhep.2020.11.019
182. Prednisolone or pentoxifylline for alcoholic hepatitis / M.R. Thursz, P. Richardson, M. Allison [et al.] // *N Engl J Med.* – 2015. – Vol. 372 (17). – P. 1619-28. – DOI: [10.1056/NEJMoa1412278](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412278)
183. Prednisolone plus S-adenosil-L-methionine in severe alcoholic hepatitis / P. Tkachenko, M. Maevskaya, A. Pavlov [et al.] // *Hepatol Int.* – 2016. – Vol.10 (6). – P. 983-7. – DOI: [10.1007/s12072-016-9751-4](https://doi.org/10.1007/s12072-016-9751-4)
184. Premkumar, M. Tobacco, cigarettes, and the liver: The smoking gun / M. Premkumar, A.C. Anand // *J Clin Exp Hepatol.* – 2021. – Vol. 11 (6). – P. 700–12. – DOI: [10.1016/j.jceh.2021.07.016](https://doi.org/10.1016/j.jceh.2021.07.016)
185. Pro-C5, a marker of true type V collagen formation and fibrillation, correlates with portal hypertension in patients with alcoholic cirrhosis / D.J. Leeming, S.S. Veidal, M.A. Karsdal [et al.] // *Scand J Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 50. – P. 584-592. – DOI: [10.3109/00365521.2014.996590](https://doi.org/10.3109/00365521.2014.996590)
186. Procollagen type III N-terminal peptide (P3NP) and lean mass: a cross-sectional study / S.D. Berry, V.S. Ramachandran, P. M. Cawthon [et al.] // *J Frailty Aging.* – 2013. – Vol. 2 (3). – P. 129–134.
187. Progression of the FIB-4 index among patients with chronic HCV infection and early liver disease / L.A.P. Krassenburg, R. Maan, A. Puenpatom [et al.] // *BMJ Open Gastroenterol.* – 2023. – Vol. 10 (1). – P. e001209. – DOI: [10.1136/bmjgast-2023-001209](https://doi.org/10.1136/bmjgast-2023-001209)
188. Progressive alcohol-related liver fibrosis is characterised by imbalanced collagen formation and degradation / M. Thiele, S. Johansen, N.S. Gudmann [et al.] // *Alimentary pharmacology and therapeutics.* – 2021. – Vol. 54 (8). – P. 1070–1080. – DOI:10.1111/apt.16567
189. Recommended nomenclature for the vertebrate alcohol dehydrogenase gene family / G. Duester, J. Farres, M.R. Felder [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 1999. – Vol. 58 (3). – P. 389-95. – DOI: [10.1016/s0006-2952\(99\)00065-9](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(99)00065-9)

190. Rehm, J. Global Alcohol-Attributable deaths From Cancer, Liver Cirrhosis, and Injury in 2010 / J. Rehm, K. Shield // *Alcohol Res Curr Rev.* – 2014. – Vol. 35 (2). – P. 10.

191. Reuter, B.K. Phosphodiesterase inhibitors prevent NSAID enteropathy independently of effects on TNF-alpha release / B.K. Reuter, J.L. Wallace // *Am J Physiol.* – 1999. – Vol. 277 (4). – P. G847–54. – DOI: [10.1152/ajpgi.1999.277.4.G847](https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.277.4.G847)

192. Ricard-Blum, S. The collagen family / S. Ricard-Blum // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2011. – Vol. 3. – P. a004978. – DOI: [10.1101/cshperspect.a004978](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978)

193. Risk factors for hepatocellular carcinoma: Synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus / Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ. [et al.] // *Hepatology.* – 2002. – Vol. 36 (5). – P. 1206–13. DOI: [10.1053/jhep.2002.36780](https://doi.org/10.1053/jhep.2002.36780)

194. Risk for alcoholic liver cirrhosis after an initial hospital contact with alcohol problems: A nationwide prospective cohort study / G. Askgaard, D.A. Leon, M.S. Kjaer [et al.] // *Hepatology.* – 2017. – Vol. 65. – P. 929–937. – DOI: [10.1002/hep.28943](https://doi.org/10.1002/hep.28943)

195. Riveros-Rosas, H. Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals / H. Riveros-Rosas, A. Julian-Sanchez, E. Pina // *Arch Med Res.* – 1997. – Vol. 28 (4). – P. 453-71.

196. Rockey, D.C. Fibrosis Regression After Eradication of Hepatitis C Virus: From Bench to Bedside / D.C. Rockey, S.L. Fridman // *Gastroenterology.* – 2021. – Vol. 160 (5). – P. 1502-152. – DOI: [10.1053/j.gastro.2020.09.065](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.09.065)

197. Role of rifaximin in the management of alcohol-associated hepatitis: A systematic review and metaanalysis / Z. Ahmed, J. Badal, M. Nawras [et al.] // *J Gastroenterol Hepato.* – 2023. – Vol. 38 (5). – P. 703–9. – DOI: [10.1111/jgh.16179](https://doi.org/10.1111/jgh.16179)

198. Role of S-adenosylmethionine, folate, and betaine in the treatment of alcoholic liver disease: Summary of a symposium / V. Purohit, M. Abdelmalek, S. Barve [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2007. – Vol. 86. – P. 14-24.

199. Roles of alcohol consumption in fatty liver: A longitudinal study / A. Moriya, Y. Iwasaki, S. Ohguchi [et al.] // *J Hepatol.* – 2015. – Vol. 62 (4). – P. 921–7. – DOI: [10.1016/j.jhep.2014.11.025](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.11.025)

200. Roles of Cytochrome P4502E1 Gene Polymorphisms and the Risks of Alcoholic Liver Disease: A Meta-Analysis / T. Zeng, F.-F. Guo, C.-L. Zhang [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (1). – P. e5418. – DOI: [10.1371/journal.pone.0054188](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054188)

201. Roux-en-Y gastric bypass is associated with increased hazard for de novo alcohol-related complications and liver disease / H.P Kim, Y. Jiang, T.M. Farrell [et al.] // *J Clin Gastroenterol.* – 2022. – Vol. 56 (2). – P. 181-5. – DOI: [10.1097/MCG.0000000000001506](https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001506)

202. S-adenosylmethionine in alcoholic liver cirrhosis: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multicenter clinical trial / J.M. Mato, J. Camara, J. Fernandez de Paz [et al.] // *J Hepatol.* – 1999. – Vol. 30. – P. 1081-9. – DOI: [10.1016/s0168-8278\(99\)80263-3](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(99)80263-3)

203. Sakhuja, P. Pathology of alcoholic liver disease, can it be differentiated from nonalcoholic steatohepatitis? / P. Sakhuja // *World J Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20. – P. 16474-16479. – DOI: [10.3748/wjg.v20.i44.16474](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i44.16474)

204. Salman, E. Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase Gene Polymorphism in Turkish Alcoholic People and Control Group / E. Salman. – Turkey: Izmir Institute of Technology, 2007. – 44 p.

205. Schug, Z.T. The metabolic fate of acetate in cancer / Z.T. Schug, J. Vande Voorde, E. Gottlieb // *Nat Rev Cancer.* – 2016. – Vol.16. – P. 708-717. – DOI: [10.1038/nrc.2016.87](https://doi.org/10.1038/nrc.2016.87)

206. Schuppan, D. Determinants of fibrosis progression and regression in NASH / D. Schuppan, R. Surabattula, X.Y. Wang // *J Hepatol.* – 2018. – Vol. 68. – P. 238-250. – DOI: [10.1016/j.jhep.2017.11.012](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.11.012)

207. Serum connective tissue markers as predictors of advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis B and D / G. Seven, S.C. Karatayli, S.K. Kose [et al.] // *Turk J Gastroenterol.* – 2011. – Vol. 22 (3). – P. 305–14. – DOI: [10.4318/tjg.2011.0217](https://doi.org/10.4318/tjg.2011.0217)

208. Serum fibrosis markers identify patients with mild and progressive hepatitis C recurrence after liver transplantation / J.A. Carrion, G. Fernandez-Varo, M. Bruguera [et al.] // *Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 138 (1). – P. 147-158. – DOI: [10.1053/j.gastro.2009.09.047](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.047).

209. Serum Liver Fibrosis Markers in the Prognosis of Liver Cirrhosis: A Prospective Observational Study / X. Qi, X. Liu, Y. Zhang [et al.] // *Med Sci Monit*. – 2016. – Vol. 22. – P. 2720-2730. – DOI: [10.12659/msm.900441](https://doi.org/10.12659/msm.900441)

210. Sheron, N. Alcohol and liver disease in Europe-Simple measures have the potential to prevent tens of thousands of premature deaths / N. Sheron // *J Hepatol*. – 2016. – Vol. 64. – P. 957-967. – DOI: [10.1016/j.jhep.2015.11.006](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.006)

211. Systematic review: Pentoxifylline for the treatment of severe alcoholic hepatitis / R. Parker, M.J. Armstrong, C. Corbett [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2013. – Vol. 37 (9). – P. 845-54. – DOI: [10.1111/apt.12279](https://doi.org/10.1111/apt.12279)

212. The fibrillar collagen family / J.Y. Exposito, U. Valcourt, C. Cluzel, C. Lethias // *Int J Mol Sci*. – 2010. – Vol. 11. – P. 407-426. – DOI: [10.3390/ijms11020407](https://doi.org/10.3390/ijms11020407)

213. The good and the bad collagens of fibrosis – their role in signaling and organ function / M.A. Karsdal, S.H. Nielsen, D.J. Leeming [et al.] // *Adv Drug Deliv Rev*. – 2017. – Vol.121. – P. 43-56. – DOI: [10.1016/j.addr.2017.07.014](https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.014)

214. The natural history of class I primate alcohol dehydrogenases includes gene duplication, gene loss, and gene conversion / M.A. Carrigan, O. Uryasev, R.P. Davis [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7 (7). – P. e41175. – DOI: [10.1371/journal.pone.0041175](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041175)

215. The neo-epitope specific PRO-C3 ELISA measures true formation of type III collagen associated with liver and muscle parameters / M.J. Nielsen, A.F. Nedergaard, S. Sun [et al.] // *Am J Transl Res*. – 2013. – Vol. 5. – P. 303-315.

216. The rising costs of alcohol-associated liver disease in the United States / J. Julien, T. Ayer, E.B. Tapper, J. Chhatwal // *Am J Gastroenterol*. – 2024. – Vol.119. – P. 270–277. – DOI: [10.14309/ajg.0000000000002405](https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000002405)

217. Thomasson, H.R. *ADH2* gene polymorphisms are determinants of alcohol pharmacokinetics / H.R. Thomasson, J.D. Beard, T.K. Li // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. –1995. – Vol.19. – P. 1494-1499. – DOI: [10.1111/j.1530-0277.1995.tb01013.x](https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1995.tb01013.x)

218. Tobacco, alcohol use and risk of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: The Liver Cancer Pooling Project / J.L. Petrick, P.T. Campbell, J. Koshiol [et al.] // *Br J Cancer*. – 2018. – Vol.118 (7). – P. 1005-12. – DOI: [10.1038/s41416-018-0007-z](https://doi.org/10.1038/s41416-018-0007-z)

219. Trivedi, P. The Power of Plasticity – Metabolic Regulation of Hepatic Stellate Cells / P. Trivedi, S. Wang, S.L. Friedman // *Cell Metab*. – 2021. – Vol. 33. – P. 242–257. –DOI: [10.1016/j.cmet.2020.10.026](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.10.026)

220. True collagen type III formation (Pro-C3) is predictive of outcome in HCV patients with advanced liver fibrosis with in the trent study / D.J. Leeming, G. Dolman, M.J. Nielsen [et al.] // *J Hepatol*. – 2016. – Vol. 64. – P. S719-S720. – DOI: [10.1016/S0168-8278\(16\)01390-8](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(16)01390-8)

221. Tsuchida, T. Mechanisms of hepatic stellate cell activation / T. Tsuchida, S.L. Friedman // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. – 2017. – Vol.14 (7). – P. 397-411. – DOI: [10.1038/nrgastro.2017.38](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.38)

222. Type III procollagen peptide level can indicate liver dysfunction associated with volume overload in acute heart failure / A. Shirakabe, H. Okazaki, M. Matsushita [et al.] // *ESC Heart Fail*. – 2022. – Vol. 9 (3). – P. 1832-1843. – DOI: [10.1002/ehf2.13878](https://doi.org/10.1002/ehf2.13878).

223. Under-Researched Demographics: Heavy Episodic Drinking and Alcohol-Related Problems Among Asian Americans / D.K. Iwamoto, A. Kaya, M. Grivel, L. Clinton // *Alcohol Research*. – 2016. – Vol. 38 (1). – 7-25. – DOI: [10.35946/arcr.v38.1.03](https://doi.org/10.35946/arcr.v38.1.03)

224. Value of ethyl glucuronide and ethyl sulfate in serum as biomarkers of alcohol consumption / L. Shukla, P. Sharma, S. Ganesha [et al.] // *Indian J Psychol Med*. – 2017. – Vol. 39 (4). – P. 481-7. – DOI: [10.4103/IJPSYM.IJPSYM_71_17](https://doi.org/10.4103/IJPSYM.IJPSYM_71_17)

225. Ventura-Cots, M, Binge drinking as a risk factor for advanced alcoholic liver disease / M. Ventura-Cots, A.E. Watts, R. Bataller // *Liver Int.* – 2017. – Vol. 37 (9). – P. 1281–3. – DOI: [10.1111/liv.13482](https://doi.org/10.1111/liv.13482)
226. Von Wartburg, J.P. An atypical human alcohol dehydrogenase / J.P. Von Wartburg, J. Papenberg, H. Aebi // *Can J Biochem.* – 1965. – Vol. 43 (7). – P. 889-98. – DOI: [10.1139/o65-102](https://doi.org/10.1139/o65-102)
227. Yoshida, A. Polymorphisms of Alcohol and Aldehyde Dehydrogenases and Their Significance for Alcohol Liver Diseases. In: Watson R, editor. *Liver Pathology and Alcohol* / A. Yoshida, A. Shibuya // *Drug and Alcohol Abuse Reviews*. 2: Humana Press, 1991. – P. 441-66.
228. Zakhari, S. Overview: How is alcohol metabolized by the body? / S. Zakhari // *Alcohol Research and Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism.* – 2006. – Vol. 29 (4). – P. 245-54.

ПРИЛОЖЕНИЕ № 1

Тест «CAGE»

<p>Ответьте на поставленные вопросы, таким образом, как Вы их понимаете. При утвердительном ответе обведите кружком «Да», при отрицательном ответе обведите кружком «Нет». В случаях затруднения с ответом не обводите ничего.</p>
<p>1. Возникало ли у Вас ощущение того, что Вам следует сократить употребление спиртных напитков?</p> <p style="text-align: center;">Да Нет</p>
<p>2. Вызывало ли у Вас чувство раздражения, если кто-то из окружающих (друзья, родственники) говорил Вам о необходимости сократить употребление спиртных напитков?</p> <p style="text-align: center;">Да Нет</p>
<p>3. Испытывали ли Вы чувство вины, связанное с употреблением спиртных напитков?</p> <p style="text-align: center;">Да Нет</p>
<p>4. Возникало ли у Вас желание принять спиртное, как только Вы просыпались после имевшего места употребления алкогольных напитков?</p> <p style="text-align: center;">Да Нет</p>

Опросник CAGE – скрининговая методика оценки хронической алкогольной интоксикации

Тест «CAGE» оценивают следующим образом:

- Положительный ответ на один из четырех вопросов (даже если таковым является последний – четвертый) не дает оснований для конкретных выводов;
- Положительные ответы на два вопроса свидетельствуют об употреблении спиртных напитков;
- Положительные ответы на три вопроса позволяют предполагать систематическое употребление алкоголя;
- Положительные ответы на все четыре вопроса почти наверняка указывают на систематическое употребление алкоголя, приближающееся к состоянию зависимости (алкоголизму);
- Отрицательные ответы на все четыре вопроса либо предполагают действительно трезвеннический образ жизни, либо нежелание пациента дать искренние ответы.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

АУДИТ (AUDIT – Alcohol Use Disorders Identification Test)

Тест для раннего выявления лиц группы риска и лиц, злоупотребляющих алкоголем, широко используется тест «AUDIT», разработанный в 1989 году рабочей группой ВОЗ. Тест содержит серию из 10 вопросов: три вопроса по потреблению, четыре вопроса по зависимости и 3 вопроса по проблемам, связанным с употреблением алкоголя.

Инструкция: «Обведите ту цифру, которая больше всего отражает Вашу ситуацию»

1. Как часто Вы употребляете напитки, содержащие алкоголь?

(0) Никогда	(1) 1 раз в месяц или реже	(2) 2-4 раза в месяц	(3) 2-3 раза в неделю	(4) 4 или более раз в неделю
-------------	----------------------------	----------------------	-----------------------	------------------------------

2. Сколько рюмок* алкогольного напитка Вы выпиваете в тот день, когда употребляете алкоголь?

(0) 1 или 2	(1) 3 или 4	(2) 5 или 6	(3) От 7 до 9	(4) 10 или более
-------------	-------------	-------------	---------------	------------------

3. Как часто Вы выпиваете 6 или более рюмок?

(0) Никогда	(1) реже, чем 1 раз в месяц	(2) 1 раз в месяц	(3) 1 раз в неделю	(4) Каждый день или почти каждый день
-------------	-----------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------------------

4. Как часто за последний год Вы замечали, что, начав пить алкогольные напитки, не можете остановиться?

(0) Никогда	(1) реже, чем 1 раз в месяц	(2) 1 раз в месяц	(3) 1 раз в неделю	(4) Каждый день или почти каждый день
-------------	-----------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------------------

5. Как часто за последний год из-за чрезмерного употребления алкоголя Вы не смогли сделать то, что делаете обычно?

(0) Никогда	(1) реже, чем 1 раз в месяц	(2) 1 раз в месяц	(3) 1 раз в неделю	(4) Каждый день или почти каждый день
-------------	-----------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------------------

6. Как часто за последний год Вам необходимо было опохмелиться утром, чтобы прийти в себя после того, как Вы много выпили накануне?

(0) Никогда	(1) реже, чем 1 раз в месяц	(2) 1 раз в месяц	(3) 1 раз в неделю	(4) Каждый день или почти каждый день
-------------	-----------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------------------

7. Как часто за последний год Вы испытывали чувство вины или угрызения совести после выпивки?

(0) Никогда	(1) реже, чем 1 раз в месяц	(2) 1 раз в месяц	(3) 1 раз в неделю	(4) Каждый день или почти каждый день
-------------	-----------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------------------

8. Как часто за последний год Вы не могли вспомнить, что было накануне вечером, потому что вы были пьяны?

(0) Никогда	(1) реже, чем 1 раз в месяц	(2) 1 раз в месяц	(3) 1 раз в неделю	(4) Каждый день или почти каждый день
-------------	-----------------------------	-------------------	--------------------	---------------------------------------

9. Получали ли Вы или кто-то другой травму по причине чрезмерного употребления вами алкогольных напитков?		
(0) Нет	(2) Да, но не в прошлом году	(4) Да, в прошлом году

10. Кто-нибудь из родственников, друг, врач или другой медицинский работник выражали озабоченность по поводу употребления Вами алкоголя или предлагали Вам уменьшить количество употребляемого алкоголя?		
(0) Нет	(2) Да, но не в прошлом году	(4) Да, в прошлом году

Рекомендуемый пороговый балл – 8. Люди с баллом больше 15, скорее всего, отвечают критериям имеющейся в настоящее время алкогольной зависимости.

* Для уточнения категории ответа принято считать, что одна порция алкогольного напитка равна 10 граммам чистого спирта. В странах, где содержания алкоголя в стандартном напитке отличается от 10 грамм более чем на 25%, категории ответов следует соответствующим образом модифицировать».**

** В самом общем виде – это кружка пива, рюмка крепких спиртных напитков или бокал сухого вина.