

Abstract

**Orlovskiy V. F., Kuchma N.G. *,
Orlovskiy O. V.**

Sumy State University,

*2 Rymskogo-Korsakova St., Sumy,
40007, Ukraine*

**PLASMA HOMOCYSTEINE LEVELS IN PATIENTS WITH
NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE**

Plasma homocysteine levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. The purpose of this investigation was to determine the level of homocysteine blood plasma in patients with nonalcoholic fatty liver disease. In investigations took part 63 patients with nonalcoholic fatty liver disease. Patients were divided into two groups. The first group (I group) included 30 nonalcoholic liver steatosis and second group (II group) included 33 patients with nonalcoholic steatohepatitis. The control group consisted of 20 almost healthy humans, which consist the control group. The presence of hepatic steatosis was confirmed ultrasound, and testified in favor of the nonalcoholic steatohepatitis, in addition to the ultrasound changes, increased activity of serum transaminases – alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase.

In the process of investigation detected significantly increase the level of homocysteine blood plasma in patients from both groups, compared to the control group. I group – $13,5 \pm 3,59$ mmol /l, II group – $15,5 \pm 3,33$ mmol/. In patients with nonalcoholic steatohepatitis average values hyperhomocysteinemia were higher than in patients with non-alcoholic steatosis. Total cholesterol and atherogenic index were increased in both groups of patients. Triacylglycerol level was increased only in patients with nonalcoholic steatohepatitis (II group). The level of high-density lipoprotein in patients with nonalcoholic fatty liver disease both groups was significantly lower than in the control group, but the differences between the level of this index in the two groups have been found. Also had been detected positively correlation dependence of homocysteine levels with body mass index and dependence of homocysteinemia level of cholesterol in patients with steatohepatitis comparing to patients with steatosis. The levels of alkaline phosphatase and gamma-glutamine transferase compared with the control group did not change, but increases in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Revealed the positive correlation between transaminase liver and plasma homocysteine in patients with nonalcoholic steatohepatitis.

In the study, we conclude that nonalcoholic fatty liver disease is accompanied by the development of hyperhomocysteinemia, which progresses with the development of nonalcoholic steatohepatitis. This allows us to treat hyperhomocysteinemia as a factor in progression disease of liver.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, hepatic steatosis, steatohepatitis, homocysteine.

Corresponding author: * KuchmaNG@gmail.com

Резюме**Орловский В. Ф., Кучма Н. Г.*,
Орловский А. В.***Сумский государственный университет,
ул. Римского-Корсакова, 2,
Сумы, 40007, Украина***УРОВЕНЬ ГОМОЦИСТЕИНА ПЛАЗМЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУЮ ЖИРОВУЮ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ**

Обследовано 30 женщин с физиологическим течением беременности и их 30 доношенных новорожденных. Нарботанны показатели содержания кобальта, никеля и свинца в сыворотке и эритроцитах крови матери, в пуповинной крови и плаценте при физиологических условиях. Проведена оценка особенностей трансплацентарной миграции этих микроэлементов к плоду. Изучены барьерная и депонирующая функции плаценты в отношении содержания кобальта, никеля и свинца. Установлено, что в биосредах беременных женщин определялся приоритетный токсический микроэлемент – свинец, который хуже никеля задерживался в плаценте, поэтому во внутриутробном периоде плод был более уязвимым к его токсическому воздействию.

Ключевые слова: плацента, плод, микроэлементы, доношенный новорожденный.

Резюме**Орловський В. Ф., Кучма Н. Г.*,
Орловський О. В.***Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, 40007, Україна***РІВЕНЬ ГОМОЦИСТЕЇНУ ПЛАЗМИ КРОВІ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ**

Метою роботи було визначити рівень гомоцистеїну плазми крові у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. У дослідженні приймали участь 30 пацієнтів з неалкогольним стеатозом печінки, 33 пацієнти з неалкогольним стеатогепатитом та 20 відносно здорових осіб, які склали контрольну групу. Пацієнтам проводили визначення гомоцистеїну плазми крові, трансаміназ та ферментів печінки і визначали ліпідний спектр крові. В ході дослідження виявили достовірне підвищення рівня гомоцистеїну плазми крові у пацієнтів обох груп, хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки, в порівнянні з контрольною групою. Рівні гіпергомоцистеїнемії були вищими у пацієнтів зі стеатогепатитом, в порівнянні з хворими на стеатоз печінки та контрольною групою. Також виявлено позитивну кореляційну залежність рівнів гомоцистеїну з індексом маси тіла та з рівнем холестерину плазми крові у пацієнтів зі стеатогепатитом.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, стеатоз печінки, стеатогепатит, гомоцистеїн.

Автор, відповідальний за листування: * KuchmaNG@gmail.com

Вступ

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) стрімко стає однією з найпоширеніших патологій печінки у світі. У дорослих пацієнтів з ожирінням НАЖХП зустрічається у 80 – 90 % хворих, у 30 – 50 % пацієнтів з діабетом та до 90 % пацієнтів з гіперліпідемією [1]. Неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) асоціюється з наявністю і ступенем ожиріння. Підвищення

індекса маси тіла (ІМТ) більше 25 кг/м² зустрічається у 3/4 хворих НАСГ, майже 100 % ожиріння асоціюється з розвитком стеатоза печінки і в 30 % випадків з НАСГ [1,2].

Актуальність вивчення неалкогольного стеатозу пов'язана з достатньо високою ймовірністю трансформації його в НАСГ з подальшим переходом у фіброз та цироз печінки [3]. James O. та Deу Cr. у 1998 році запропонували теорію

патогенеза НАЖХП, що отримала назву «теорія двох ударів». «Першим ударом» є жирова дистрофія печінки, що розвивається при надмірному накопиченні в гепатоцитах вільних жирних кислот. Одночасно або згодом розвивається оксидантний стрес – «другий удар» з формуванням запальної реакції та стеатогепатиту. Проте, клінічна практика свідчить, що у більшості пацієнтів стеатоз протягом життя так і не прогресує у стеатогепатит. А при розвитку стеатогепатита, стеатоз і запалення частіше прогресують одночасно [4]. Постійно оновлюються та доповнюються дані про патогенез НАЖХП, формується теорія «множинних паралельних ударів», котрі пояснюють розвиток НАЖХП дією на печінку різноманітних факторів, що продукуються вісцеральною жировою тканиною (вільні жирні кислоти (ВЖК), адипокіни) на фоні вродженого імунітету, окислювального стресу, інсулінрезистентності (ІР) [5,6,7]. Одним із недостатньо вивчених, але не менш важливим механізмом розвитку та прогресування НАЖХП є порушення метаболізму гомоцистеїну [8,9]. В Україні гіпергомоцистеїнемію (ГГЦ) виявляють до 10% у здорових осіб, та до 43% пацієнтів з захворюваннями серцево-судинної системи [4]. На сьогодні багато клінічних та епідеміологічних досліджень доводять зв'язок ГГЦ з розвитком серцево-судинних захворювань, фетоплацентарною недостатністю, патогенезом шизофренії [5,9,10,11]. На цьому фоні викликає зацікавлення роль ГГЦ в розвитку НАЖХП та її вплив на подальше прогресування хвороби. При НАЖХП в умовах ІР активується ліполіз, це призводить до циркуляції ВЖК, які не утилізуються в мітохондріях, а накопичуються в гепатоцитах [2]. В умовах гіпергомоцистеїнемії та постійної продукції вільних радикалів, швидкість окислення ліпідів підвищується, пошкодження мембран гепатоцитів та мітохондрій поглиблюється. Відомим предиктором переходу стеатозу в стеатогепатит є ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-8. Підвищений рівень гомоцистеїну активує ці прозапальні цитокіни, підвищує внутрішньоклітинний рівень супероксиданіну, викликаючи окислювальний стрес, що призводить до апоптозу, порушення синтезу ліпідів і гіперхолестеринемії [5,10]. Високі концентрації гомоцистеїну гальмують процеси метилювання, стимулюють продукцію колагену в стінці судин, володіють вазоконстрикторною дією. При вивченні різних аспектів патології печінки при стеатозі та стеатогепатиті, виявило зв'язок не тільки з

важкими, але і з помірними метаболічними порушеннями [9].

Мета роботи: Дослідження рівня гомоцистеїну плазми крові у хворих на різних стадіях НАЖХП.

Матеріали та методи

У дослідження залучені 63 пацієнти, які проходили лікування в гастроентерологічному відділенні Сумської обласної клінічної лікарні. Хворі розподілені на дві групи: І група – пацієнти з неалкогольним стеатозом печінки (НАСП) (n=30 пацієнтів), ІІ група – пацієнти з НАСГ (n=33 пацієнти), група контролю складала 20 практично здорових осіб, у яких не зареєстровано хвороб печінки. Хворі були репрезентативні за віком та статтю. У дослідження не включалися хворі з алкогольним анамнезом, позитивними маркерами вірусних гепатитів, ознаками аутоімунних хвороб печінки. Наявність стеатозу печінки підтверджували даними УЗД, а на користь НАСГ свідчило, у додаток до ультразвукових змін, підвищення активності сироваткових трансаміназ – аланінамінотрансферази (АЛТ), аспаратаміно-трансферази (АСТ) від 2 до 4 разів.

Визначення рівні гомоцистеїну проводили імуноферментним методом з використанням аналізаторів «IMMULITE ONE, DPA» (США) і наборів реактивів «IMMULITE 1000 Homocysteine» згідно з інструкцією. Дослідження ферментів печінки: АЛТ, АСТ, лужної фосфатази (ЛФ), гаммаглутамінтранспептидази (ГГТП), ліпідного спектру, що включав: загальний холестерин (ЗХС), триацилгліцериди (ТГ), холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ), холестерин ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ), індекс аерогенності (ІА) проводили за загальноприйнятими методиками.

Статистичну обробку даних проводили з використанням програмних пакетів «SPSS Statistics». Для розрахунку параметричних статистичних критеріїв визначали середню арифметичну варіаційного ряду (M) і середню похибку середньої арифметичної ($\pm m$). Для визначення сили та напрямку зв'язку між показниками в досліджуваних групах застосовували кореляційний аналіз (кореляційний індекс Спірмена – r), однофакторний дисперсійний аналіз.

Результати та їх обговорення

Серед обстежених хворих було 33 (52,4%) жінки та 30 (47,6%) чоловіків. У І групу хворих на НАСП увійшло 17 (56,7%) жінок та 13 (43,3%) чоловіків, середній вік обстежених осіб

складав $54,1 \pm 9,44$ (від 36 до 69 років). У II групи хворих на НАСГ увійшли 16 (48,5%) жінок та 17 (51,5%) чоловіків, середній вік складав $55,4 \pm 9,34$ (від 32 до 68 років). Відмінностей за статтю та віком у групах не виявлено.

Вивчення клінічної картини пацієнтів показало, що 10 пацієнтів (33,4%) I групи та 16 пацієнтів (48,5%) II групи пред'являли скарги на періодичну тяжкість у правому підребер'ї, відчуття важкості після вживання жирної їжі, періодичну гіркоту в роті. Клінічна симптоматика в обстежених хворих була неспецифічною та будь-яких суттєвих відмінностей серед обстежених хворих I та II групи знайдено не було.

Досліджуючи рівень гомоцистеїну у пацієнтів з НАЖХП, виявили достовірне його підвищення у хворих обох груп, в порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Крім того, гіпергомоцистеїнемія була достовірно вища (I гр. – $13,5 \pm 3,59$, II гр. – $15,5 \pm 3,33$, $p < 0,05$) у пацієнтів з НАСГ (таблиця 1).

Враховуючи, що НАЖХП – це порушення ліпідного обміну, доцільно було дослідити показники ліпідного профілю у пацієнтів на різних етапах розвитку хвороби. Отримані дані наведені в таблиці 2.

Рівень ЗХС був достовірно вищий у пацієнтів обох груп в порівнянні з контрольною групою. Тоді як показники ТГ були достовірно вищими лише у пацієнтів II групи хворих на НАСГ, в порівнянні з I групою та контролем. Достовірної різниці між ХС ЛПНЩ обох досліджуваних груп, в порівнянні з контрольною, не зареєстровано. Рівень ХС ЛПВЩ у пацієнтів з НАЖХП обох груп був достовірно нижчим ніж у контрольній групі, але розходжень між рівнем цього показника в порівнюваних групах не зареєстровано. ІА у пацієнтів обох груп був достовірно вищим в порівнянні з контрольною групою. Пацієнти з НАСГ мали достовірно вищий показник ІА ніж пацієнти з НАСП.

Таким чином, в ході дослідження у пацієнтів з НАЖХП встановлено дисліпідемію, що прояв-

лялась достовірним підвищенням рівнів ЗХС, ІА та зниженням рівня ХС ЛПВЩ у хворих обох груп в порівнянні з групою контролю. У хворих на НАСГ прояви дисліпідемії глибші, про що свідчать достовірні збільшення рівнів ТГ та ЗХС, у порівнянні з хворими на НАСП.

Встановлено позитивний кореляційний зв'язок середньої сили в обох групах хворих гомоцистеїну з ІМТ ($r_1 = +0,56$ $p < 0,05$, $r_2 = +0,54$ $p < 0,05$ відповідно). Позитивний кореляційний зв'язок гомоцистеїну з ЗХС спостерігається лише у хворих на НАСГ ($r_2 = +0,52$ $p < 0,01$).

Активність процесу в клітинах печінки оцінювали за зміною маркерів запалення. В таблиці 3 представлені результати дослідження ферментів печінки.

Рівні ЛФ та ГГТП у порівнянні з контрольною групою не змінюються, але зростають у пацієнтів з НАСГ. Встановлено, що у хворих з НАСГ, в порівнянні з НАСП, разом з ГГЦ підвищуються рівні АЛТ ($r_2 = +0,35$ $p < 0,05$) та АСТ ($r_2 = +0,34$ $p < 0,05$), що проявляється позитивним кореляційним зв'язком з рівнем гомоцистеїну.

Таким чином виявлено підвищення рівня гомоцистеїну у хворих на НАЖХП, причому це зростання було вищим у хворих на НАСГ. В роботах, що були проведені раніше також констатується підвищення рівня гомоцистеїну при НАЖХП в порівнянні з контрольними групами. Показана кореляційна залежність між вираженістю патологічних змін, зокрема стеатозу, в печінці та показниками рівнів гомоцистеїну [12, 13, 14].

Основна причина ГГЦ – порушення метаболізму гомоцистеїну, що спричинене генетичним дефектом основних ферментів його обміну та недостатністю вітамінів В6, В12, фолієвої кислоти, що посилюється в умовах інсулінрезистентності.

Таблиця 1.

Рівень гомоцистеїну плазми крові у хворих на НАЖХП.

Показник	Контроль (n=20)	I група (n=30)	II група (n=33)	P*
Гомоцистеїн мкмоль/л	9,7±0,48	13,5±3,59	15,5±3,33	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05

*P₁ – ймовірність розходження між показниками контрольної групи та I групи, P₂ – ймовірність розходження між показниками контрольної групи та II групи, P₃ – ймовірність розходження між показниками I групи та II групи

Таблиця 2.

Показники ліпідного обміну у хворих на НАЖХП

Показник	Контроль (n=20)	I група (n=30)	II група (n=33)	P*
ЗХС, ммоль/л	4,7±0,12	5,4±0,93	6,4±0,64	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05
ТГ, ммоль/л	1,8±0,05	1,9±0,38	2,1±0,41	P ₁ > 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,4±0,02	1,1±0,20	1,1±0,23	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ > 0,05
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	2,5±0,13	2,7±0,82	2,9±0,73	P ₁ > 0,05 P ₂ > 0,05 P ₃ > 0,05
ІА	2,3±0,14	4,2±0,90	4,9±0,97	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05

*P₁ – ймовірність розходження між показниками контрольної групи та I групи, P₂ – ймовірність розходження між показниками контрольної групи та II групи, P₃ – ймовірність розходження між показниками I та II груп.

Таблиця 3.

Показники цитолізу у хворих на НАЖХП.

Показник	Контроль (n=20)	I група (n=30)	II група (n=33)	P*
АЛТ, Од/л	43,2±3,61	45,1±5,87	71,7±8,1	P ₁ > 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05
АСТ, Од/л	39,5±4,34	41,3±5,63	62,4±9,82	P ₁ > 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05
ЛФ, Од/л	171±15,11	204,4±71,71	251,4±60,11	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05
ГГТП, Од/л	36,1±3,12	49,2±17,72	59,1±13,24	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05

*P₁ – ймовірність розходження між показниками контрольної групи та I групи, P₂ – ймовірність розходження між показниками контрольної групи та II групи, P₃ – ймовірність розходження між показниками I групи та II групи.

Біохімічне значення метаболізму гомоцистеїну полягає у відновленні його до метіоніну, який є головним донором метильних груп у чисельних метаболічних реакціях. Недостатність метальної групи (CH₃) сприяє зниженню синтезу білкових компонентів ліпопротеїнів і тому може бути причиною збільшення в мембранах та міжклітинному просторі ЛПНЩ та ЛПДНЩ [15]. Дослідження, що проводились на щурах довели, що збагачена на метіонін їжа сприяє зниженню гомоцистеїну плазми крові та норма-

лізації ліпідного спектру зі зменшенням жирової інфільтрації печінки [16]. Крім того, ГГЦ стимулює експресію ГМК-КоА-редуктази, ключового ферменту в синтезі холестерину, підвищуючи вміст його в плазмі крові [17]. Отримані нами дані підтверджують позитивний кореляційний зв'язок гомоцистеїну з рівнем холестерину при прогресуванні НАЖХП та поглибленні порушень ліпідного обміну. Гомоцистеїн, як предиктор пошкодження ендотелію судин, має згубний вплив на клітини печінки, поглиблюю-

чи оксидантний стрес, індукуючи продукцію прозапальних цитокінів, призводить до патологічних змін в гепатоцитах з розвитком фіброзу та цирозу. Пошук та вивчення механізмів впливу ГГЦ та виникнення та розвиток НАЖХП є перспективним в попередженні появи цієї патології та її лікування.

Висновки

1. У хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки середній рівень гомоцистеїну плазми крові достовірно вищий в порівнянні з практично здоровими пацієнтами. Ступінь підвищення рівня гомоцистеїну значно вищий у хворих з НАСГ.

2. Встановлено наявність достовірного прямого кореляційного зв'язку між рівнем гомоцистеїну, індексом маси тіла, трансаміназами печінки та загальним холестерином. Ці зв'язки були сильнішими у хворих з неалкогольним стеатогепатитом.

3. Неалкогольна жирова хвороба печінки супроводжується розвитком гіпергомоцистеїнемії, яка прогресує з розвитком стеатогепатиту, що дозволяє розглядати ГГЦ як один з факторів прогресування захворювання.

References (список літератури)

- Bellentani S, Scaglioli F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis*. 2010;28:155–161. Retrieved from: http://www.giorgiobedogni.it/reprints/nafl_d_epidemiology_2010.pdf
- Babak AIa, Kolesnikova EV. *Cirroz i ego oslozhneniia* [Cirrhosis and its complications]. Kiev: Zdorove Ukrainy, 2011. 576 p.
- Tkach SM. [Prevalence, diagnosis and treatment strategies for non-alcoholic fatty liver disease]. *Zdorovia Ukrainy*. 2009;(1-2):63-65
- Glushchenko SV. [Pathogenetic mehanizmi development of NAFLD]. *News of medicine and pharmacy. Gastroenterology*. 2012;(414). Retrieved from: <http://www.mif-ua.com/archive/article/30912>.
- Skvortsov YuI, Korolkova AS. [Homocysteine as a risk factor of ischemic heart disease development (review)]. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2011;7(3):619-624
- Moschen A. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*. 2010;52(5):1836–1846 Retrieved from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.24001/full>
- Polyzos S, Kountouras J, Zavos Ch. Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Curr Mol Med*. 2009; 9(3):299–314 Retrieved from: <http://www.eurekaselect.com/68916/article>
- Adinolfi L, Hepatitis C and fatty liver. *Hot topics in viral hepatitis. Hepatitis C and metabolism*. 2006;2:21-29 Retrieved from: <http://www.hottopicsin.com/Articles/tabid/109/SerieId/14/IssueId/16/ArtId/18/Act/2/Default.aspx>
- Silva AdeS, Mota MP. Effects of physical activity and training programs on plasma homocysteine levels: a systematic review. *Amino Acids*. 2014;46(8):1795-1804.
- Fetisova IN [Polymorphisms of folate cycle genes and human disease]. *Herald Ivan. Med. Acad*. 2006;11(1-2):77-82
- Zhilayeva TV [Desordered folate metabolism in the light of dysontogenetic theory of schizophrenia]. *Social and Clinical Psychiatry*. 2012;22(1):88-94
- S.de Carvalho, Maria Muniz, Maria Siqueira. Plasmatic higher levels of homocysteine in Non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition Journal*. 2013;12 Retrieved from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3626579/>
- F Brochado, Domenici FA, C Martinelli, Zucoloto S. Methylene-tetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism and Serum Homocysteine Levels in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrition and Metabolism*. 2013;63(3):193-199
- Polyzos SA, Kountouras J, Patsiaoura K, Katsiki E, Zafeiriadou E et al. Serum homocysteine levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatology*. 2012;11(1):68-76.
- Alan L, Miller ND, Gregory S, Kelly ND. Homocysteine Metabolism: Nutritional Modulation and Impact on Health and Disease. *Alternative Medicine*. 1997;2(4): 234–254.
- Dahlhoff C, Worsch S, Sailer M, Hummel BA, Fiamoncini J et al. Methyl-donor supplementation in obese mice prevents the progression of NAFLD, activates AMPK and decreases acyl-carnitine levels. *Molecular Metabolism*. 2014;5(3):565-580.

17. Li H, Lewis A, Brodsky S et al. Homocysteine induces 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in vascular endothelial cells. *Circulation*. 2002;105(9):1037–1043 Retrieved from:2014;3(5):565–580

<http://circ.ahajournals.org/content/105/9/1037.long>.

(received 15.07.2014, published online 23.12.2014)

(отримано 15.07.2014, опубліковано 23.12.2014)