

РОЛЬ L-КАРНИТИНА В РАЗВИТИИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

С. В. Глущенко

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Изучена роль карнитиновой недостаточности в развитии неалкогольного стеатогепатита. Установлено влияние L-карнитина на показатели оксида азота и вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Доказана взаимосвязь между уровнем L-карнитина и степенью нарушения липидного обмена.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, диагностика, L-карнитин.

РОЛЬ L-КАРНИТИНУ В РОЗВИТКУ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТУ

С. В. Глущенко

Вивчено роль карнітинової недостаточності в розвитку неалкогольного стеатогепатиту. Установлено вплив L-карнітину на показники оксиду азоту та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів. Доведено взаємозв'язок між рівнем L-карнітину і ступенем порушення ліпідного обміну.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, неалкогольний стеатогепатит, діагностика, L-карнітин.

THE ROLE OF L-CARNITINE IN THE DEVELOPMENT OF NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

S. V. Glushchenko

The role of carnitine deficiency in the development of nonalcoholic steatohepatitis. The effect of L-carnitine on the performance of nitric oxide and secondary products of lipid peroxidation. Proved the relationship between the level of L-carnitine and the degree of lipid metabolism.

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, diagnostics, L-carnitine.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является важной медико-социальной проблемой современного общества. Актуальность проблемы НАЖБП в настоящее время обусловлена широким распространением, прогрессивным течением, недостаточной эффективностью применяемых методов диагностики, лечения, профилактики и нередко трансформацией в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному [3, 5].

Число лиц, страдающих НАЖБП, прогрессивно увеличивается, что связано с ростом распространенности ожирения и сахарного диабета 2 типа и составляет 20% в общей популяции [8, 18]. В США жировую дистрофию печени имеют более 34% (60 млн человек) взрослого населения, в Японии — 29% взрослых [15]. Исследования свидетельствуют, что НАЖБП становится актуальной медицинской проблемой не только для европейских стран и США, но и для развивающихся стран Азии и Океании [16].

До недавнего времени в патогенезе НАЖБП выделяли два этапа развития (теория «двух ударов») [2]. Основное значение в развитии воспалительно-некротических изменений в печени имеет избыточное отложение жира в паренхиме органа с последующим развитием липотоксического стресса, каскадом реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ), повреждением гепатоцитов и образованием провоспалительных цитокинов, стимулирующих

фиброгенез [17]. Однако согласно настоящему представлению механизм развития НАЖБП рассматривают как более сложный процесс, в основе которого лежат множественные и, возможно, одновременные «удары» (multi-hit) [14]. На фоне стеатоза и образования активных форм кислорода происходит взаимодействие между клетками иммунной системы, макрофагами, гепатоцитами, что составляет второй этап — «множественный второй удар», происходит трансформация стеатоза в стеатогепатит и далее в неалкогольный цирроз печени [13].

В последние годы активно исследуется роль L-карнитина в развитии и прогрессировании НАЖБП и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), а также в формировании фиброза печени. L-карнитин осуществляет ряд внутриклеточных и метаболических функций: транспорт свободных жирных кислот, детоксикацию потенциально токсичных метаболитов, регулирование митохондриального ацетилкоэнзима А (КоА), стабилизацию клеточных мембран. Он играет ключевую роль в транспорте длинноцепочечных жирных кислот через внутреннюю мембрану митохондрий и образовании КоА [6, 7, 18]. Нарушение этих процессов приводит к возникновению митохондриальной дисфункции, что в свою очередь ведет к недостаточности энергообеспечения клеток печени, нарушению обменных процессов, дальнейшему развитию

клеточного повреждения вплоть до гибели клетки. Выраженность патологического процесса в печени связана со степенью зависимости печеночных клеток от эффективности аэробного окисления [1]. Доказанной является связь между степенью карнитиновой недостаточности, выраженностью гепатоцеллюлярного повреждения и паренхиматозного воспаления при НАЖБП [11]. Имеются данные о том, что L-карнитин уменьшает действие окислительного стресса и модулирует воспалительные реакции [12], положительно влияет на уровни цитолитических ферментов и показатели липидного профиля [11] за счет улучшения транспорта свободных жирных кислот, детоксикации потенциально токсичных метаболитов, регулирования митохондриального КоА, стабилизации клеточных мембран. В ряде работ показано протективное действие L-карнитина при формировании фиброза печени [10, 11]. Однако до конца не изучена роль L-карнитина в развитии и прогрессировании НАСГ, недостаточно исследовано влияние карнитиновой недостаточности на показатели системы ПОЛ у больных НАСГ.

Цель работы — изучить роль L-карнитина, малонового диальдегида и оксида азота в развитии НАСГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 65 больных НАСГ. Возраст пациентов составлял от 23 до 67 лет. Среди них было 36 (55,4%) женщин и 29 (44,6%) мужчин. Контрольную группу составляли 20 здоровых лиц.

У всех больных диагноз верифицирован с помощью инструментальных (УЗИ) и клинико-лабораторных методов исследования. Для исключения вирусной этиологии поражения печени определяли маркеры гепатитов В и С методом ПЦР. Критериями исключения служили употребление алкоголя или гепатотропных ядов в анамнезе. Функциональное состояние печени оценивали по уровню общего билирубина и его фракций (метод Ендрашика–Клеггорна–Гроффа), активности щелочной фосфатазы (ЩФ) (с помощью фотоэлектрического колориметра КФК-2 по гидролизу *p*-нитрофенилфосфата), АСТ и АЛТ (унифицированный динитрофенилгидразинный метод Райтмана–Френкеля), тимоловой пробы (унифицированный метод), липидного профиля. В качестве маркеров липидного обмена изучали содержание общего холестерина (ОХ) (метод Илька), β -липопротеидов (β -ЛП), триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) в сыворотке крови (методом дискэлектрофореза в полиакриламидном геле). Коэффициент атерогенности вычисляли по формуле: $(\text{ОХ} - \text{ЛПВП}) - 1,0$.

Уровень L-карнитина сыворотки крови определяли методом иммуноферментного анализа

с помощью набора Human L-Carnitin ELISA Kit производства фирмы Biotech (США). Метаболит оксида азота в сыворотке крови определялся с помощью реактива Грисса–Илосвая. Содержание вторичных продуктов ПОЛ–МДА, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в плазме крови определяли измеряя оптическую плотность и оценивали на основании разницы экстинкций.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью стандартного пакета программ Microsoft Excel. Достоверность различий оценивали по методу вариационной статистики с помощью *t*-критерия Стьюдента и критерия Манна–Уитни для независимых переменных в отдельных группах, для определения связей между показателями — корреляционный анализ по Спирмену. Достоверной считалась разница при $p < 0,05$. Для выражения результатов некоторых биохимических показателей (L-карнитин, МДА, оксид азота) использован метод перцентилей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех обследованных больных с НАСГ (табл. 1) имело место достоверное повышение уровня АЛТ и АСТ относительно контрольной группы ($p < 0,001$). Показатель АЛТ составлял $103,5 \pm 7,25$ Ед/л, АСТ — $96,0 \pm 6,3$ Ед/л, что свидетельствовало о наличии гепатоцеллюлярного повреждения.

При анализе нарушений липидного обмена установлено наличие дислипидемии, проявляющейся достоверным повышением общего холестерина ($p < 0,001$), β -липопротеидов ($p < 0,001$), триглицеридов ($p < 0,001$), ЛПНП ($p < 0,001$), ЛПОНП ($p < 0,001$), коэффициента атерогенности ($p < 0,001$), снижением уровня ЛПВП ($p < 0,001$) у всех больных, по сравнению с контрольной группой. Это согласуется с литературными данными об избыточном поступлении жиров и углеводов в печень, которые затем преобразуются в жирные кислоты, являющиеся субстратом для синтеза триглицеридов и липопротеидов очень

Таблица 1

Биохимические показатели печени

Показатель	НАСГ (n = 65)	Контрольная группа (n = 20)
АЛТ, Ед/л	$103,5 \pm 7,25^*$	$28,0 \pm 2,3$
АСТ, Ед/л	$96,0 \pm 6,3^*$	$29,5 \pm 2,0$
ОХ, ммоль/л	$5,9 \pm 0,13^*$	$4,6 \pm 0,25$
β -ЛП, Ед	$65,0 \pm 3,37^*$	$41,5 \pm 2,0$
ТГ, ммоль/л	$1,88 \pm 0,11^*$	$1,12 \pm 0,27$
ЛПВП, ммоль/л	$0,82 \pm 0,08^*$	$1,47 \pm 0,26$
ЛПНП, ммоль/л	$4,4 \pm 0,25^*$	$2,73 \pm 0,32$
ЛПОНП, ммоль/л	$0,43 \pm 0,06^*$	$0,27 \pm 0,04$
Коэффициент атерогенности, ммоль/л	$4,55 \pm 0,4^*$	$2,25 \pm 0,45$

Примечание: * — $p < 0,001$ достоверность различий в сравнении с группой контроля.

Таблица 2

Уровни L-карнитина, метаболитов оксида азота и МДА

Показатель	Больные НАСГ (n = 65)	Контрольная группа (n = 20)	Метрологические параметры	
L-карнитин, мкмоль/л	14,49*	31,05	Медиана	
	1,39	1,25	d-	
	1,2	3,12	d+	
	13,1	29,8	25 %	Процентили
	15,68	34,17	75 %	
Метаболиты оксида азота, мкмоль/л	140,42*	40,72	Медиана	
	10,82	6,2	d-	
	8,4	7,16	d+	
	129,6	40,53	25 %	Процентили
	148,82	53,88	75 %	
МДА, мкмоль/л	9,139	2,91	Медиана	
	1,14	1,02	d-	
	1,23	1,13	d+	
	7,99	2,68	25 %	Процентили
	10,36	3,0	75 %	

Примечание: * – $p < 0,001$ достоверность различий в сравнении с группой контроля.

низкой плотности, накапливающихся в гепатоцитах [9]. Из последних, благодаря повышению активности триглицеридсинтетазы и триглицеридлипазы, синтезируются β -липопротеиды.

У всех больных НАСГ было выявлено снижение уровня L-карнитина в сыворотке крови (14,49 мкмоль/л; P_{25} — 13,1; P_{75} — 15,68), различия были достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) (табл. 2). Достоверное снижение сывороточных концентраций L-карнитина в группе наблюдения свидетельствует о недостаточности карнитинассоциированных механизмов переноса длинноцепочечных жирных кислот в митохондриальный матрикс, что влечет за собой нарушение β -окисления жирных кислот и прогрессирование метаболических нарушений.

У больных НАСГ был отмечен повышенный уровень содержания метаболитов оксида азота (140,42 мкмоль/л; P_{25} — 129,6; P_{75} — 148,82; $p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, что обусловлено повышением уровня липопротеидов низкой плотности, которые стимулируют активность индуцибельной синтазы оксида азота [4].

У пациентов с НАСГ отмечалось достоверное ($p < 0,001$) повышение отдельных показателей системы ПОЛ — вторичных продуктов, в частности МДА (9,13 мкмоль/л; P_{25} — 7,99; P_{75} — 10,36), что свидетельствовало о нарастании оксидативного стресса и прогрессировании заболевания.

При проведении корреляционного анализа была выявлена сильная отрицательная связь между уровнем L-карнитина сыворотки крови и изучаемыми показателями системы ПОЛ — метаболитами оксида азота и МДА ($-0,76$; $p < 0,01$ и $-0,73$; $p < 0,01$, соответственно). Полученные данные согласуются

с литературными о роли и влиянии L-карнитина на регуляцию внутриклеточного метаболизма благодаря способности выводить ацильные остатки продуктов обмена жирных кислот, тем самым предупреждая развитие и прогрессирование НАСГ [11].

Нами выявлены корреляционные связи между уровнем L-карнитина сыворотки крови и показателями липидного спектра крови (табл. 3).

Установлена обратная корреляционная зависимость между L-карнитином и ОХ ($r = -0,74$; $p < 0,01$). Содержание L-карнитина у больных НАСГ оказывало сильное отрицательное влияние на β -ЛП ($r = -0,74$; $p < 0,01$), ТГ ($r = -0,73$; $p < 0,01$), ЛПНП ($r = -0,73$; $p < 0,01$), ЛПОНП ($r = -0,67$; $p < 0,01$) и коэффициент атерогенности ($r = -0,72$; $p < 0,01$). Прямая корреляционная связь установлена между L-карнитином и ЛПВП, коэффициент корреляции составлял $r = 0,74$ ($p < 0,01$). Полученные результаты свидетельствуют о роли L-карнитина в обмене липидов у больных НАСГ.

Таблица 3

Корреляционные связи между уровнем L-карнитина сыворотки крови и показателями липидограммы у больных НАСГ

Показатели	L-карнитин
ОХ	-0,74*
β -ЛП	-0,74*
ТГ	-0,73*
ЛПВП	0,74*
ЛПНП	-0,73*
ЛПОНП	-0,67*
Коэффициент атерогенности	-0,72*

Примечание: * — $p < 0,01$.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования позволяют выявить наряду с известными механизмами развития НАСГ новые, еще малоизученные аспекты патогенеза данного заболевания.

2. Установлена взаимосвязь между наличием карнитиновой недостаточности и нарушением липидного обмена, что может приводить к развитию липотоксического стресса.

3. С учетом патогенетических механизмов развития НАСГ и для предотвращения прогрессирования заболевания необходима медикаментозная коррекция на ранних стадиях.

Полученные результаты изучения отдельных механизмов развития НАСГ могут быть в перспективе использованы в разработке лечебно-диагностических схем и для прогноза течения заболевания.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Анохина Г. А. Митохондриальные нарушения, их роль в патогенезе жировой болезни печени и особенности лечения / Г. А. Анохина, Н. В. Харченко // *Здоровье Украины*. — 2012. — № 1 (23). — С. 58–59.
2. Гастроэнтерология. Гепатология: учебное пособие / Под ред. А. Буна, Р. Колледжа, Р. Уолкера [и др.]; пер. с англ.; под ред. В. Т. Ивашкина. — М.: Рид Элсивер, 2009. — 192 с.
3. Друпкина О. М. Патогенез, лечение и эпидемиология НАЖБП — что нового? Эпидемиология НАЖБП в России / О. М. Друпкина, В. И. Смирин, В. Т. Ивашкин // *Рос. мед. журнал*. — 2011. — Т. 19, № 28. — С. 1717–1721.
4. Звенигородская Л. А. Оксид азота как маркер воспаления при стеатогепатите у больных с метаболическим синдромом / Л. А. Звенигородская, Т. В. Нилова // *РМЖ*. — 2008. — Т. 10, № 2. — С. 47–51.
5. Звягинцева Т. Д. Лечение хронических диффузных заболеваний печени: какие возможности открывает перед нами применение гепатопротекторов? / Т. Д. Звягинцева // *Здоров'я України*. — 2009. — № 12/1. — С. 32–33.
6. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prospective diet in nonalcoholic fatty liver disease / E. Bugianesi, E. Gentilcore, R. Manini [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* — 2005. — № 100. — P. 1082–1090.
7. Cai D. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappa B / D. Cai, M. Yuan // *Nat. Med.* — 2005. — № 11. — P. 183–190.
8. De Alwis N. M. Nonalcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears / N. M. De Alwis, C. P. Day // *J. Hepatol.* — 2008. — Vol. 48 (suppl. 1). — P. 104–112.
9. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis / K. Yamaguchi, L. Yang, S. McCall [et al.] // *Hepatology*. — 2007. — № 45. — P. 1366–1374.
10. L-carnitine ameliorated fatty liver in high-calorie diet/STZ-induced type 2 diabetic mice by improving mitochondrial function / Y. Xia, Q. Li, W. Zhong [et al.] // *Diabetol. Metab. Syndr.* — 2011. — № 3. — P. 31.
11. L-carnitine supplementation to diet: a new tool in treatment of nonalcoholic steatohepatitis—a randomized and controlled clinical trial / M. Malaguarnera, M. P. Gargante, C. Russo [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 105, № 6. — P. 1338–1345.
12. L-carnitine treatment reduces steatosis in patients with chronic hepatitis C treated with alpha-interferon and ribavirin / M. Romano, M. Vacante, E. Cristaldildi [et al.] // *Digestive Diseases and Sciences*. — 2008. — № 53. — P. 1114–1121.
13. Lewis J. R. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Review and Update / J. R. Lewis, S. R. Mohanty // *Digestive Diseases and Sciences*. — 2010. — Vol. 55. — P. 560–578.
14. Mouzaki M. Nonalcoholic steatohepatitis: the therapeutic challenge of a global epidemic / M. Mouzaki, J. Allard // *Annals of gastroenterology*. — 2012. — Vol. 25, № 3. — P. 207–217.
15. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: A case-control study / A. Brea, D. Mosquera, E. Martin [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — Vol. 25. — P. 1045–1050.
16. Parekh S. Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease / S. Parekh, F. A. Anania // *Gastroenterology*, 2007. — Vol. 132. — P. 2191–2207.
17. Paschos P. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome / P. Paschos, K. Paletas // *Hippokratia*. — 2009. — Vol. 13. — № 1. — P. 9–19.
18. Vuppalanchi R. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management / R. Vuppalanchi, N. Chalasani // *Hepatology*. — 2009. — Vol. 49. — P. 306–317.