



Научная статья

К ОЦЕНКЕ РИСКА РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАКТОРОВ TNF- α , IL-6, VEGF И ПОЛИМОРФИЗМОВ ИХ ГЕНОВ

И.А. Булатова¹, Л.Д. Пестренин¹, Т.П. Шевлюкова³, А.М. Миахова¹,
А.В. Кривцов², И.Л. Гуляева¹

¹Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Россия, 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26

²Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Россия, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

³Тюменский государственный медицинский университет, Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54

Разработана система расчета риска развития и прогрессирования неалкогольного стеатоза печени (НАСП) на основе интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), васскулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и полиморфизма генов IL-6 в регионе -174G/C (rs1800795), TNF- α в регионе -308G/A (rs1800629), и VEGFA в регионе -634G/C (rs2010963).

Обследованы 52 больных НАСП и 65 здоровых доноров. Оценивали уровни цитокинов TNF- α , IL-6 и VEGF в сыворотке крови. Также изучали полиморфизм генов TNF- α в регионе -308G/A, IL-6 в регионе -174G/C и VEGFA в регионе -634G/C.

Среди больных НАСП преобладают женщины в возрасте от 32 до 54 лет (67%). В ходе проведенного исследования было установлено, что концентрации провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6 и уровень VEGF в сыворотке крови были значимо выше у пациентов с НАСП, чем в контрольной группе ($p = 0,03$; $p = 0,00003$ и $p = 0,001$ соответственно), что подтверждает наличие воспалительного синдрома и дисфункцию эндотелия при данной патологии. У пациентов с НАСП в сравнении с донорами значимо чаще регистрировался генотип AA гена TNF- α -308G/A (rs1800629) ($p = 0,04$). Гомозигота CC и аллель C гена VEGFA (G-634C) в позиции rs2010963 значимо чаще регистрировались в группе с НАСП, чем в группе контроля ($p = 0,02$ и $p = 0,01$ соответственно). Статистически значимые различия по полиморфизму гена IL-6 в регионе -174G/C (rs1800795) в изучаемых группах не были обнаружены. Полиморфизм гена TNF- α -308G/A коррелировал с активацией выработки цитокинов TNF- α и IL-6 ($Ki = 0,588$; $p = 0,043$ и $Ki = 0,597$; $p = 0,04$ соответственно), что может приводить к развитию иммуновоспалительного синдрома у его носителей. При определении генетического профиля у 51% доноров риск развития НАСП оценивался как низкий, у 75% пациентов с НАСП – как высокий.

Риск развития НАСП ассоциирован с носительством генотипа AA гена TNF- α -308G/A и генотипа CC гена VEGFA -634G/C. Оценка генетического профиля с использованием этих маркеров позволяет оценить риск развития НАСП у здоровых и прогрессирования у больных стеатозом печени.

Ключевые слова: стеатоз печени, цитокины, фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-6, васскулоэндотелиальный фактор роста, полиморфизм генов.

© Булатова И.А., Пестренин Л.Д., Шевлюкова Т.П., Миахова А.М., Кривцов А.В., Гуляева И.Л., 2022

Булатова Ирина Анатольевна – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой нормальной физиологии, профессор кафедры факультетской терапии № 2, профессиональной патологии и клинической лабораторной диагностики (e-mail: bula.1977@mail.ru; тел.: 8 (342) 217-10-31; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7802-4796>).

Пестренин Лев Дмитриевич – преподаватель кафедры патологической физиологии (e-mail: levpestrenin@gmail.com; тел.: 8 (342) 217-10-31; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1786-4329>).

Шевлюкова Татьяна Петровна – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии (e-mail: tata21.01@mail.ru; тел.: 8 (922) 394-28-08; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7019-6630>).

Миахова Альбина Мавлетьяновна – аспирант кафедры патологической физиологии (e-mail: albinamiftahova91@mail.ru; тел.: 8 (963) 871-91-56; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9149-6328>).

Кривцов Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммуногенетики (e-mail: kriktsov@ferisk.ru; тел.: 8 (342) 236-86-99; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7986-0326>).

Гуляева Инна Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии (e-mail: pimenova774@yandex.ru; тел.: 8 (342) 217-10-31; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7521-1732>).

В структуре патологии печени лидирующее место занимает неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) [1]. Всероссийское исследование DIREG 2 показало, что НАЖБП встречается более чем у одной трети взрослого населения, причем среди этих пациентов неалкогольный стеатоз печени (НАСП) был выявлен в 80 % случаев. По данным некоторых исследователей, НАЖБП в 95 % случаев ассоциирована с метаболическим синдромом, чаще в виде жирового гепатоза [2]. У ряда лиц заболевание осложняется формированием воспаления печени (неалкогольный стеатогепатит). Хроническая воспалительная реакция ведет к развитию фиброза и цирроза, а также предрасполагает к развитию рака печени. Это является стимулом для более внимательного изучения механизмов развития НАЖБП с целью определения факторов риска, в том числе и генетических.

По одним данным, НАЖБП чаще регистрируют у женщин в возрасте 40–50 лет, соотношение мужчин и женщин 1:3, хотя заболевание встречается во всех возрастных группах [3]¹. По результатам Всероссийского исследования DIREG 1, которое включало 30 754 человека, женщины с НАЖБП составили 56 %. Согласно этому исследованию наиболее распространенными факторами риска развития НАЖБП были дислипидемия (2-го типа по Фридриксену) – у 75,9 % пациентов, артериальная гипертензия – у 69,9 % и гиперхолестеринемия – у 68,8 % [4]. По другим данным, факторами риска развития НАЖБП являлись: мужской пол, возраст от 30 до 59 лет, избыточная масса тела и ожирение (индекс массы тела более 25 кг/м²), гипергликемия, гипер триглицеридемия, гиперхолестеринемия [5].

Единого хорошо изученного механизма развития НАЖБП не существует. Патогенез НАЖБП многофакторный и включает в себя следующие процессы: главное звено – инсулинорезистентность и изменение профиля гормонов – регуляторов жирового обмена, формирование гиперинсулинемии, активация липолиза в жировой ткани, повышение количества свободных жирных кислот, активация процессов глуконеогенеза в печени, приводящих к гипергликемии, повышение продукции липопротеинов очень низкой плотности и снижение захвата триглицеридов с развитием дислипидемии, повышение активности провоспалительных цитокинов и свободных радикалов с развитием воспаления в печени, что в конечном счете ведет к прогрессированию стеатоза в стеатогепатит и фиброз печени с дальнейшим возможным переходом в цирроз [6].

Одним из компонентов сложного патогенеза развития и прогрессирования НАЖБП является воспаление, основными медиаторами которого выступают цитокины. К ключевым цитокинам можно отнести

интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), они стимулируют воспаления, регулируют апоптоз и некроз гепатоцитов, усугубляют инсулинорезистентность, а также индуцируют фиброз [7].

По данным ряда исследований [8–10], TNF- α коррелирует со степенью жировой дистрофии печени и активирует адгезивные свойства эндотелиальных клеток. Рядом авторов было установлено повышение уровня IL-6 в крови больных НАЖБП [11–13]. При этом концентрация IL-6 в печени имела прямую корреляцию с активностью воспаления, выраженной фиброза и уровнем этого цитокина в крови, особенно при прогрессировании НАЖБП [14].

Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF) при воспалительном процессе активирует выработку коллагена звездчатыми клетками печени и механизмы неоангиогенеза. В ряде исследований, проведенных на крысах с НАЖБП и метаболическим синдромом, было показано, что дисфункция эндотелия возникает еще до начала воспаления и развития фиброза в печени [15–18].

В последние годы активно изучают проблему наследственной предрасположенности к развитию НАЖБП. К значимому аспекту следует отнести наличие полиморфизма генов, регулирующих иммунновоспалительные процессы [19]. Гены цитокинов высокополиморфны. Тем не менее количество исследований, направленных на изучение связи полиморфизма генов TNF- α и IL-6 с развитием НАЖБП, невелико, а результаты порой противоречивы. Возможно, это связано с наличием особенностей распределения частот аллелей и генотипов в популяции, обусловлено регионом проживания, расовыми различиями, а также разным методическим подходом. Например, соотношение частот аллелей (A к G) по -308G>A полиморфному маркеру гена TNF у населения Азиатско-Тихоокеанского региона составляет 1,2–7 %, у здоровых жителей Китая – около 3,3 %, а в других популяциях находится в пределах от 12 до 24 %. При этом генотип AA по данному гену у жителей Азиатско-Тихоокеанского региона не встречается, тогда как у представителей других народностей обнаруживается в 1,2–7,9 % [20].

В ряде исследований определялся вклад мутаций в промоторной части гена IL-6 в развитие патологии печени, однако полученные результаты оказались достаточно противоречивыми. По данным литературы, у европейцев с неалкогольным стеатогепатитом и гепатоцеллюлярной карциномой частота встречаемости аллеля C по -174G>C маркеру гена IL-6 значимо выше, чем в группе здоровых [21, 22]. Также было обнаружено, что носительство аллеля C по -174G>C полиморфизма гена IL-6 ассоциируется с развитием неалкогольного стеатогепатита в рос-

¹ Неалкогольная жировая болезнь печени: методические рекомендации / под ред. акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. Г.И. Сторожакова. – М.: Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, 2015. – 42 с.

сийской популяции [23]. Однако в другом исследовании корреляции данного полиморфизма с развитием патологии печени выявлено не было [24].

Цель исследования – разработать систему расчета риска развития и прогрессирования неалкогольного стеатоза печени (НАСП) на основе интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), ваккулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и полиморфизма генов TNF- α в регионе -308G/A (rs1800629), IL-6 в регионе -174G/C (rs1800795) и VEGFA в регионе -634G/C (rs2010963).

Материалы и методы. Обследовано 52 больных неалкогольной жировой болезнью печени с клинической формой неалкогольного стеатоза печени (НАСП), из них женщин было 35 (67 %), мужчин – 17 (33 %). Средний возраст пациентов составил $43,0 \pm 11,1$ г. Наличие стеатоза печени подтверждалось путем ультразвукового исследования. В исследование не включали пациентов с жировым гепатозом алкогольной и лекарственной этиологии, которая устанавливалась во время сбора анамнеза, а также не включали больных с неалкогольным стеатогепатитом, который устанавливался оценкой уровня трансамина. Анализируемые выборки были одинаково подвержены влиянию факторов, вызывающих развитие НАСП. Преобладание в нашей случайной выборке в Пермском крае лиц женского пола с НАСП сопоставимо с данными более крупных всероссийских исследований [3, 4]¹.

В группу контроля вошли 65 практически здоровых человек, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой пациентов, без патологии печени и другой патологии, ассоциированной с метаболическим синдромом. Всеми участниками была получена полная информация об исследовании и подписано добровольное информированное согласие.

Уровень цитокинов TNF- α , IL-6 и VEGF в сыворотке крови 15 практически здоровых лиц и 40 больных НАСП определяли методом ИФА на спектрофотометре Stat-Fax 2100 (США) с применением наборов фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Исследование полиморфизма генов TNF- α в регионе -308G/A, IL-6 в регионе -174G/C и VEGFA в регионе -634G/C у 52 пациентов с НАСП и 65 здоровых доноров осуществляли на амплификаторе Real-time CFX-96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Использовали аллель-специфическую ПЦР «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», г. Москва).

Для определения риска развития и прогрессирования НАСП проводилась оценка генетического профиля пациентов и доноров в зависимости от встречаемости генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов генов по разработанной нами шкале балльной оценки.

Значение баллов:

0 – по трем полиморфизмам пациент гомозиготен по протективным аллелям;

1 – гетерозиготен по одному из двух генов;

2 – гетерозиготен по двум генам;

3 – обследуемый имеет обе аллели риска по одному гену, гомозиготен по протективным аллелям по другому гену;

4 – по одному гену у обследуемого имеются обе аллели риска, по другому гену обследуемый гетерозиготен;

5 – обследуемый по обоим генам гомозиготен по аллелям риска TNF- α (AA) / VEGFA (CC).

По предложенной шкале при наличии у здоровых доноров 0–1 балла риск развития НАСП оценивается как низкий, 2–3 баллов – умеренный, 4–5 баллов – высокий. При выявлении у пациентов 0–1 балла риск прогрессирования НАСП оценивается как низкий, 2–3 баллов – умеренный, 4–5 баллов – высокий.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Statistica 7.0. Количественные параметры были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха ($Q1-Q3$). Значимость различий независимых групп оценивалась с помощью критерия Манна – Уитни. Для оценки взаимосвязей применяли коэффициент корреляции Спирмена (r) с определением уровней значимости. Метод χ^2 использовали для описания соотношения частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов генов. По таблице сопряженности (кросс-табуляции) выявляли зависимость между изучаемыми качественными признаками с использованием коэффициента сопряженности Пирсона (Ki)². Достоверными считались различия между выборками при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. По результатам обследования у пациентов с НАСП концентрации TNF- α , IL-6 и уровень VEGF в сыворотке крови были значимо выше, чем в контрольной группе ($p = 0,03$, $p = 0,00003$ и $p = 0,001$ соответственно) (табл. 1).

Таблица 1

Концентрации цитокинов TNF- α , IL-6 и VEGF в контрольной группе и у пациентов с НАСП (Me , 25-й и 75-й перцентили)

Показатель	Контрольная группа, $n = 15$	Пациенты НАСП, $n = 40$	p
TNF- α , пг/мл	0 (0; 0,02)	1,1 (0; 3,15)	0,03*
IL-6, пг/мл	0 (0; 0)	0,9 (0; 2,2)	0,0003*
VEGF, пг/мл	86,65 (10,7; 132,4)	184,6 (94,7; 291,6)	0,001*

Примечание: p – значимость различий, * – статистически значимые различия.

² Шелудько В.С., Подлужная М.Я. Теоретические основы медицинской статистики: методические рекомендации. – Пермь, 2001. – 36 с.

Повышение уровня исследуемых провоспалительных цитокинов в крови больных НАСП характеризует наличие воспалительного синдрома, что было отмечено и рядом других авторов при НАЖБ [8, 11–13]. При этом TNF- α достоверно коррелировал с концентрацией IL-6 ($r = 0,54; p = 0,0001$).

Увеличение концентрации VEGF в сыворотке крови пациентов с НАСП может свидетельствовать о развитии дисфункции эндотелия при этой патологии. Полученные нами данные согласуются с результатами ряда других исследований, подтвердивших наличие эндотелиальной дисфункции при стеатозе печени не только биохимическими, но и функциональными методами [25, 26].

У 52 пациентов с НАСП и 65 здоровых доноров практически с одинаковой частотой выявлялись генотипы GG гена TNF- α : в 13,46 и 21,54 % соответственно ($\chi^2 = 3,23; p = 0,25; OR = 0,57$) и GA – в 78,85 и 78,46 % соответственно ($\chi^2 = 1,28; p = 0,96; OR = 1,02$) полиморфизма гена TNF- α в позиции rs1800629. Значимых различий по распределению аллелей G и A гена TNF- α в регионе -308G/A в изучаемых группах не было обнаружено ($p = 0,58$ и $p = 0,58$ соответственно) (табл. 2).

Однако генотип AA гена TNF- α в регионе -308G/A значимо чаще регистрировался у больных НАСП, чем в популяции здоровых (7,69 и 0 % со-

ответственно; $\chi^2 = 6,05; p = 0,04; OR = 1,76$), что отмечали другие исследователи у жителей Азиатско-Тихоокеанского региона [20]. Возможно, носительство генотипа AA гена TNF- α (rs1800629) значительно в плане генетической предрасположенности к НАСП.

По полиморфизму гена IL-6 в регионе -174G/C (rs1800795) значимых различий нами не было выявлено. В обеих когортах отмечено преобладание генотипа GC – в 52,31 и 51,92 % соответственно ($\chi^2 = 0,36; p = 0,97; OR = 0,98$). Аллели G и C также встречались с одинаковой частотой ($p = 0,58$ и $p = 0,50$ соответственно) (табл. 3). В работах других исследователей также опубликованы данные об отсутствии связи этого полиморфизма с развитием НАЖБ [24].

При изучении аллельных вариантов гена VEGFA (G-634C) в позиции rs2010963 нами было установлено, что генотип GC преобладал у здоровых в 35,38 % ($\chi^2 = 7,71; p = 0,04$). Однако гомозигота CC обнаруживалась значимо чаще в когорте больных НАСП – в 28,85 % случаев с высокой вероятностью ($OR = 3,36$), а у здоровых – лишь в 10,77 % ($\chi^2 = 6,18; p = 0,02$). Аллель C гена VEGFA в регионе -634G/C у больных НАСП регистрировался в 54,81 % случаев, что было значимо выше, чем у доноров ($\chi^2 = 6,83; p = 0,01; OR = 2,00$) (см. табл. 2).

Таблица 2

Частота встречаемости аллельных вариантов генов TNF- α в регионе -308G/A (rs1800629), IL-6 в регионе -174G/C (rs1800795) и VEGFA в регионе -634G/C (rs2010963) у пациентов с НАСП и в группе здоровых доноров

Генотип / аллели генов		Доноры ($n = 65$), % $\pm m$	НАСП ($n = 52$), % $\pm m$	OR	p
TNF- α -308G/A	GG, %	21,54 \pm 5,1	13,46 \pm 4,73	0,57	0,25
	GA, %	78,46 \pm 5,1	78,85 \pm 5,66	1,02	0,96
	AA, %	0 \pm 0	7,69 \pm 3,69	1,76	0,04*
Аллели	G-аллель, %	58,46 \pm 4,32	52,88 \pm 4,89	0,72	0,58
	A-аллель, %	39,23 \pm 4,28	47,12 \pm 4,89	1,38	0,58
IL-6 -174G/C	GG, %	32,31 \pm 5,8	28,85 \pm 6,28	0,85	0,69
	GC, %	52,31 \pm 6,2	51,92 \pm 6,93	0,98	0,97
	CC, %	15,38 \pm 4,47	19,23 \pm 5,47	1,31	0,59
Аллели	G-аллель, %	58,46 \pm 4,32	54,81 \pm 4,88	0,86	0,58
	C-аллель, %	41,54 \pm 4,32	45,19 \pm 4,88	1,16	0,58
VEGFA -634G/C	GG, %	35,38 \pm 5,93	19,23 \pm 5,47	0,43	0,04*
	GC, %	53,85 \pm 6,18	51,92 \pm 6,93	0,93	0,84
	CC, %	10,77 \pm 3,85	28,85 \pm 6,28	3,36	0,02*
Аллели	G-аллель, %	62,31 \pm 4,25	45,19 \pm 4,88	0,50	0,01*
	C-аллель, %	37,69 \pm 4,25	54,81 \pm 4,88	2,00	0,01*

Примечание: OR – отношение шансов, p – значимость различий, * – различия статистически значимые.

Таблица 3

Генетический профиль доноров и пациентов с НАСП

Группы	Баллы					
	0	1	2	3	4	5
Доноры, % (абс.)	9 (6)	42 (27)	35 (23)	3 (2)	11 (7)	–
НАСП, % (абс.)	2 (1)	23 (12)	40 (21)	4 (2)	29 (15)	2 (1)

Нами не было выявлено значимых различий в частотах генов у женщин и мужчин с НАСП. Учитывая тот факт, что гены расположены в аутосомах (неполовых хромосомах) и наследуются независимо от пола, мы полагаем, что гендерный фактор не оказывает значимого влияния на риск развития НАСП.

Таким образом, можно предположить, что предиктором развития НАСП является аллель С в локусе гена VEGFA (G-634C). В наших предыдущих исследованиях была показана его значимость при хронизации вирусных заболеваний печени [27].

Следовательно, риск развития НАСП ассоциирован с носительством генотипа AA гена TNF- α -308G/A и генотипа CC гена VEGFA -634G/C.

При оценке зависимости по таблице сопряженности в группе с НАСП была выявлена взаимосвязь полиморфизма региона -308G/A гена TNF- α с активацией выработки цитокинов TNF- α и IL-6 ($K_i = 0,558$; $p = 0,043$ и $K_i = 0,597$; $p = 0,042$ соответственно), что может приводить к прогрессированию иммуновоспалительного синдрома в группе носителей.

Для определения риска развития и прогрессирования НАСП проводилась оценка генетического профиля здоровых доноров и пациентов в зависимости от встречаемости генотипов и аллелей генов TNF- α в регионе -308G/A и VEGFA в регионе -634G/C по разработанной нами шкале балльной оценки. По предложенной шкале при наличии у здоровых доноров 0–1 балла риск развития НАСП оценивается как низкий, 2–3 баллов – как умеренный, 4–5 баллов – как высокий. При выявлении у пациентов 0–1 балла риск прогрессирования НАСП оценивается как низкий, 2–3 баллов – как умеренный, 4–5 баллов – как высокий.

В группе доноров более половины (51 %) имели низкий риск развития НАСП (0–1 балл по шкале), 38 % – умеренный (2–3 балла), 11 % – высокий (4 балла) (табл. 3).

В группе пациентов 25 % имели низкий риск прогрессирования НАСП (0–1 балл), почти половина

больных (44 %) – умеренный (2–3 балла), а треть обследуемых (31 %) – высокий риск (4–5 баллов) по шкале.

Выводы. Среди больных НАСП преобладают женщины в возрасте от 32 до 54 лет (67 %). У больных НАСП выявлены высокие уровни провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6, а также повышенная концентрация VEGF, что свидетельствует о наличии воспалительного синдрома и эндотелиальной дисфункции при данной патологии.

У пациентов с НАСП в регионе -308G/A гена TNF- α значимо чаще обнаруживалась гомозигота AA, чем в популяции доноров.

При изучении комбинаций аллельных вариантов гена -634G/C VEGFA в позиции rs2010963 гомозигота CC и аллель С значимо чаще регистрировались в группе больных НАСП, чем у практически здоровых лиц.

По генотипам и аллелям полиморфизма гена IL-6 в регионе -174G/C (rs1800795) не выявлено достоверной разницы. Следовательно, риск развития НАСП ассоциирован с носительством генотипа AA гена TNF- α -308G/A и генотипа CC гена VEGFA -634G/C, особенно в сочетании с высоким уровнем провоспалительных цитокинов.

Предлагаемые подходы с применением анализа генетического профиля по генам TNF- α в регионе -308G/A и VEGFA в регионе -634G/C позволяют провести раннюю неинвазивную диагностику риска развития НАСП у здоровых (при наличии 4–5 баллов риск оценивается как высокий) и риска возможного прогрессирования НАСП у больных (при наличии 4–5 баллов риск развития и соответственно прогрессирования оценивается как высокий) и могут быть использованы в практическом здравоохранении.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and American Gastroenterological Association / N. Chalasani, Z. Younossi, J.W. Lavine, A.M. Diehl, E.M. Brunt, K. Cusi, M. Charlton, A.J. Sanyal // Hepatology. – 2012. – Vol. 55, № 6. – P. 2005–2023. DOI: 10.1002/hep.25762
2. Структура поражений печени у больных с ожирением и метаболическим синдромом / А.Г. Курская, Л.В. Чеснокова, И.А. Трошина, М.Н. Гончарова, И.М. Петров // Медицинская наука и образование Урала. – 2013. – Т. 14, № 1 (73). – С. 34–37.
3. Павлов Ч., Бакулин И. Неалкогольный стеатогепатит: клинические особенности и принципы лечения // Врач. – 2007. – № 10. – С. 24–28.
4. Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в России (результаты открытого многоцентрового проспективного исследования-наблюдения DIREG L 01903) // РЖГГК. – 2014. – Т. 24, № 4. – С. 32–38.
5. Комова А.Г., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Принципы эффективной диагностики диффузных заболеваний печени на амбулаторном этапе // РЖГГК. – 2014. – Т. 24, № 6. – С. 36–41.
6. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации / В.Т. Ивашкин, М.В. Маевская, Ч.С. Павлов, И.Н. Тихонов, Е.Н. Широкова, А.О. Буеверов, О.М. Драпкина, Ю.О. Шульпекова [и др.] // РЖГГК. – 2016. – Т. 26, № 2. – С. 24–42.

7. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease / V. Braunesreuther, G.L. Viviani, F. Mach, F. Montecucco // World J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 18, № 8. – P. 727–735. DOI: 10.3748/wjg.v18.i8.727
8. TNF- α is an inflammatory marker of cardiovascular risks in non-alcoholic fatty liver disease / R. Khan, S. Quaiser, S.F. Haque, A. Ahmad // Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2011. – Vol. 5, № 6. – P. 1237–1240.
9. Роль фактора некроза опухоли в развитии метаболического синдрома / Н.С. Юбцикская, М.В. Антонюк, Л.В. Временчук, К.К. Ходосова // Терапевтический архив. – 2009. – Т. 81, № 11. – С. 59–63.
10. Similarities and differences in outcomes of cirrhosis due to nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C / A.J. Sanyal, C. Banas, C. Sargeant, V.A. Luketic, R.K. Sterling, R.T. Stravitz, M.L. Schiffman, D. Heuman [et al.] // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, № 4. – P. 682–689. DOI: 10.1002/hep.21103
11. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2 / J.W. Haukeland, J.K. Damås, Z. Konopski, E.M. Løberg, T. Haaland, I. Goverud, P.A. Torjesen, K. Birkeland [et al.] // Journal of Hepatology. – 2006. – Vol. 44, № 6. – P. 1167–1174. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.02.011
12. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E / M. Kugelmas, D.B. Hill, B. Vivian, L. Marsano, C.J. McClain // Hepatology. – 2003. – Vol. 38, № 2. – P. 413–419. DOI: 10.1053/jhep.2003.50316
13. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis / S. Abiru, K. Migita, Y. Maeda, M. Daikoku, M. Ito, K. Ohata, S. Nagaoka, T. Matsumoto [et al.] // Liver Int. – 2006. – Vol. 26, № 1. – P. 39–45. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01191.x
14. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis / A. Wieckowska, B.G. Pauchacho, Z. Li, R. Lopez, N.N. Zein, A.E. Feldstein // Am. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 103, № 6. – P. 1372–1379. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01774.x
15. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGF / J. LeCouter, D.R. Moritz, B. Li, G.L. Phillips, X.H. Liang, H.P. Gerber, K.J. Hillan, N. Ferrara // Science. – 2003. – Vol. 299, № 5608. – P. 890–893. DOI: 10.1126/science.1079562
16. Vascular endothelial growth factor promotes fibrosis resolution and repair in mice / L. Yang, J. Kwon, Y. Popov, G.B. Gajdos, T. Ordog, R.A. Brekken, D. Mukhopadhyay, D. Schuppan [et al.] // Gastroenterology. – 2014. – Vol. 146, № 5. – P. 1339–1350.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.061
17. Драпкина О.М., Деева Т.А., Иващенко В.Т. Оценка эндотелиальной функции и степени апоптоза у пациентов с метаболическим синдромом и неалкогольной жировой болезнью печени // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87, № 5. – С. 76–83. DOI: 10.17116/terarkh201587576-83
18. Hepatic endothelial dysfunction and abnormal angiogenesis: New targets in the treatment of portal hypertension / J. Bosch, J.G. Abraldes, M. Fernández, J.C. García-Pagán // J. Hepatol. – 2010. – Vol. 53, № 3. – P. 558–567. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.021
19. Lewis J.R., Mohanty S.R. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update // Dig. Dis. Sci. – 2010. – Vol. 55, № 3. – P. 560–578. DOI: 10.1007/s10620-009-1081-0
20. Influence of polygenic polymorphisms on the susceptibility to non-alcoholic fatty liver disease of Chinese people / Y.-J. Zhou, Y.-Y. Li, Y.-Q. Nie, H. Yang, Q. Zhan, J. Huang, S.L. Shi, X.-B. Lai, H.-L. Huang // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2010. – Vol. 25, № 4. – P. 772–777. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06144x
21. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphismis associated with non-alcoholic steatohepatitis / L. Carulli, I. Canedi, S. Rondinella, S. Lombardini, D. Ganazzi, S. Fargion, M. De Palma, A. Lonardo [et al.] // Dig. Liver Dis. – 2009. – Vol. 41, № 11. – P. 823–828. DOI: 10.1016/j.dld.2009.03.005
22. IL-6-174G/C polymorphism and IL-6 serum levels in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma / L. Giannitrapani, M. Soresi, A. Giacalone, M.E. Campagna, M. Marasà, M. Cervello, S. Marasà, G. Montalto // OMICS. – 2011. – Vol. 15, № 3. – P. 183–186. DOI: 10.1089/omi.2010.0093
23. Курбатова И.В., Дуданова О.П., Топчиева Л.В. Роль полиморфизма rs4537545 (C>T) гена IL6R в развитии неалкогольного стеатогепатита // Медицинский академический журнал. – 2016. – Т. 16, № 4. – С. 59–61.
24. The role of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis / M. Cengiz, D.G. Yasar, M.A. Ergun, G. Akyol, S. Ozendirler // Hepat. Mon. – 2014. – Vol. 14, № 12. – P. e24635. DOI: 10.5812/hepatmon.24635
25. Пивторак Е.В. Нарушения функции эндотелия у больных неалкогольной жировой болезнью печени // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – Т. 102, № 2. – С. 63а.
26. Evaluation of endothelial dysfunction in patients with nonalcoholic fatty liver disease: Association of selenoprotein P with carotid intima-media thickness and endothelium-dependent vasodilation / I. Cetindagli, M. Kara, A. Tanoglu, V. Ozalper, S. Aribal, Y. Hancerli, M. Unal, O. Ozari [et al.] // Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol. – 2017. – Vol. 41, № 5. – P. 516–524. DOI: 10.1016/j.clinre.2017.01.005
27. Булатова И.А. Ваккулоэндотелиальный фактор роста и полиморфизм гена VEGF (rs2010963) в патогенезе хронического вирусного гепатита С [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – URL: <http://www.science-education.ru/113-11340> (дата обращения: 07.02.2021).

К оценке риска развития и прогрессирования неалкогольного стеатоза печени с использованием факторов TNF- α , IL-6, VEGF и полиморфизмов их генов / И.А. Булатова, Л.Д. Пестренин, Т.П. Шевлюкова, А.М. Мицхахова, А.В. Кричевцов, И.Л. Гуляева // Анализ риска здоровью. – 2022. – № 1. – С. 114–122. DOI: 10.21668/health.risk/2022.1.12

Research article

ON ASSESSING RISKS OF DEVELOPING AND PROGRESSING NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE USING TNF-A, IL6, AND VEGF FACTORS AND POLYMORPHISMS OF THEIR GENES

I.A. Bulatova¹, L.D. Pestrenin¹, T.P. Shevlyukova³,
A.M. Miftakhova, A.V. Krivtsov², I.L. Gulyaeva¹

¹Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, 26 Petropavlovskaya Str., Perm, 614990, Russian Federation

²Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russian Federation

³Tyumen State Medical University, 54 Odesskaya Str., Tyumen, 625023, Russian Federation

Our research aim was to develop a system for calculating risks of development and progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The system would be based on interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and TNF- α gene polymorphism in the region -308G/A (rs1800629), IL-6 in the region -174G/C (rs1800795), and VEGFA in the region -634G/C (rs2010963).

We examined 52 patients with NAFLD and 65 healthy donors. The examination involved estimating levels of cytokines TNF- α , IL-6 and VEGF in blood serum. We also studied the polymorphism of the TNF- α genes in the -308G/A region, IL-6 in the -174G/C region, and VEGFA in the -634G/C region.

Women aged from 32 to 54 years prevailed among patients with NAFLD (67%). We established in this research that concentrations of the pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-6 and the level of VEGF in the blood serum were significantly higher in patients with NAFLD than in the reference group ($p = 0.03$; $p = 0.00003$ and $p = 0.001$ accordingly). This confirms an occurring inflammatory syndrome and endothelial dysfunction that are typical for this pathology. Patients with NAFLD tended to have the AA genotype of the TNF- α -308G/A gene (rs1800629) significantly more frequently than healthy donors ($p = 0.04$). Homozygote CC and allele C of the VEGFA gene (G-634C) in the position rs2010963 were significantly more often detected in the test group (patients with NAFLD) than in the reference one ($p = 0.02$ and $p = 0.01$ respectively). We didn't detect any statistically significant differences in the IL-6 gene polymorphism in the -174G/C (rs1800795) region in the analyzed groups. TNF- α -308G/A gene polymorphism correlated with activating production of TNF- α and IL-6 cytokines ($Ki = 0.588$; $p = 0.043$ and $Ki = 0.597$; $p = 0.04$, respectively), which can lead to developing immune-inflammatory syndrome in its carriers. When determining genetic profiles, we established that 51% donors had low risks of NAFLD development whereas the risk was high for 75% of patients with the disease.

The risk of developing NASP is associated with carrying the AA genotype of the TNF- α -308G/A gene and the CC genotype of the VEGFA -634G/C gene. Assessment of a genetic profile using these markers provides an opportunity to assess risks of developing NAFLD in healthy people and to predict its progression in patients with the disease.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, cytokines, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, vascular endothelial growth factor, gene polymorphism.

© Bulatova I.A., Pestrenin L.D., Shevlyukova T.P., Miftakhova A.M., Krivtsov A.V., Gulyaeva I.L., 2022

Irina A. Bulatova – Doctor of Medical Sciences, Head of the Department for Normal Physiology, Professor at the Department of Faculty Therapy No. 2, Occupational Pathology and Clinical Laboratory Diagnostics (e-mail: bula.1977@mail.ru; tel.: +7 (342) 217-10-31; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7802-4796>).

Lev D. Pestrenin – lecturer at the Department of Pathological Physiology (e-mail: levpestrenin@gmail.com; tel.: +7 (342) 217-10-31; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1786-4329>).

Tatyana P. Shevlyukova – Doctor of Medical Sciences, Professor at the Obstetrics and Gynecology Department (e-mail: tata21.01@mail.ru; tel.: +7 (922) 394-28-08; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7019-6630>).

Albina M. Miftakhova – post-graduate student at the Department of Pathological Physiology (e-mail: albinamiftahova91@mail.ru; tel.: +7 (963) 871-91-56; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9149-6328>).

Aleksandr V. Krivtsov – Candidate of Medical Sciences, Head of the Immune Genetics Laboratory (e-mail: krivtsov@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-86-99; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7986-0326>).

Inna L. Gulyaeva – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology (e-mail: pimenova774@yandex.ru; tel.: +7 (342) 217-10-31; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7521-1732>).

References

1. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.W., Diehl A.M., Brunt E.M., Cusi K., Charlton M., Sanyal A.J. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and American Gastroenterological Association. *Hepatology*, 2012, vol. 55, no. 6, pp. 2005–2023. DOI: 10.1002/hep.25762
2. Kurskaya A.G., Tchesnokova L.V., Troshina I.A., Goncharova M.N., Petrov I.M. The structure of the liver lesions in patients with obesity and metabolic syndrome. *Meditinskaya nauka i obrazovanie Urala*, 2013, vol. 14, no. 1 (73), pp. 34–37 (in Russian).
3. Pavlov Ch., Bakulin I. Nealkogol'nyi steatogepatit: klinicheskie osobennosti i printsipy lecheniya [Non-alcoholic steatohepatitis: clinical features and treatment principles]. *Vrach*, 2007, no. 10, pp. 24–28 (in Russian).
4. Drapkina O.M., Ivashkin V.T. Epidemiologicheskie osobennosti nealkogol'noi zhirovoi bolezni pecheni v Rossii (rezul'taty otkrytogo mnogotsentrovogo prospektivnogo issledovaniya-nablyudeniya DIREG L 01903) [Epidemiologic features of non-alcoholic fatty liver disease in Russia (Results of open multicenter prospective follow-up study DIREG L 01903)]. *RZhGGK*, 2014, vol. 24, no. 4, pp. 32–38 (in Russian).
5. Komova A.G., Maevskaya M.V., Ivashkin V.T. Printsipy effektivnoi diagnostiki diffuznykh zabolevanii pecheni na ambulatornom etape [Principles of effective diagnostics of diffuse liver diseases at out-patient stage]. *RZhGGK*, 2014, vol. 24, no. 5, pp. 36–41 (in Russian).
6. Ivashkin V.T., Maevskaya M.V., Pavlov Ch.S., Tikhonov I.N., Shirokova E.N., Bueverov A.O., Drapkina O.M., Shul'pekova Yu.O. [et al.]. Klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu nealkogol'noi zairovoi bolezni pecheni Rossiiskogo obshchestva po izucheniyu pecheni i Rossiiskoi gastroenterologicheskoi assotsiatsii [Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease of the Russian Society for the Study of the Liver and the Russian Gastroenterological Association]. *RZhGGK*, 2016, vol. 26, no. 2, pp. 24–42 (in Russian).
7. Braunesreuther V., Viviani G.L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.*, 2012, vol. 18, no. 8, pp. 727–735. DOI: 10.3748/wjg.v18.18.727
8. Khan R., Quaiser S., Haque S.F., Ahmad A. TNF- α is an inflammatory marker of cardiovascular risks in non-alcoholic fatty liver disease. *JCDR*, 2011, vol. 5, no. 6, pp. 1237–1240.
9. Yubitskaya N.S., Antonyuk M.V., Veremchuk L.V., Khodosova K.K. Role of tumor necrosis factor in the development of metabolic syndrome. *Terapevticheskii arkhiv*, 2009, vol. 81, no. 11, pp. 59–63 (in Russian).
10. Sanyal A.J., Banas C., Sergeant C., Luketic V.A., Sterling R.K., Stravitz R.T., Schiffman M.L., Heuman D. [et al.]. Similarities and differences in outcomes of cirrhosis due to nonalcoholic steatohepatitis and hepatitis C. *Hepatology*, 2006, vol. 43, no. 4, pp. 682–689. DOI: 10.1002/hep.21103
11. Haukeland J.W., Damås J.K., Konopski Z., Løberg E.M., Haaland T., Goverud I., Torjesen P.A., Birkeland K. [et al.]. Systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease is characterized by elevated levels of CCL2. *J. Hepatol.*, 2006, vol. 44, no. 6, pp. 1167–1174. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.02.011
12. Kugelmas M., Hill D.B., Vivian B., Marsano L., McClain C.J. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology*, 2003, vol. 38, no. 2, pp. 413–419. DOI: 10.1053/jhep.2003.50316
13. Abiru S., Migita K., Maeda Y., Daikoku M., Ito M., Ohata K., Nagaoka S., Matsumoto T. [et al.]. Serum cytokine and soluble cytokine receptor levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int.*, 2006, vol. 26, no. 1, pp. 39–45. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01191.x
14. Wieckowska A., Papouchado B.G., Li Z., Lopez R., Zein N.N., Feldstein A.E. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 2008, vol. 103, no. 6, pp. 1372–1379. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01774.x
15. LeCouter J., Moritz D.R., Li B., Phillips G.L., Liang X.H., Gerber H.P., Hillan K.J., Ferrara N. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGF. *Science*, 2003, vol. 299, no. 5608, pp. 890–893. DOI: 10.1126/science.1079562
16. Yang L., Kwon J., Popov Y., Gajdos G.B., Ordog T., Brekken R.A., Mukhopadhyay D., Schuppan D. [et al.]. Vascular endothelial growth factor promotes fibrosis resolution and repair in mice. *Gastroenterology*, 2014, vol. 146, no. 5, pp. 1339–1350.e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.061
17. Drapkina O.M., Deeva T.A., Ivashkin V.T. Evaluation of endothelial function and estimation of the degree of apoptosis in patients with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Terapevticheskii arkhiv*, 2015, vol. 87, no. 5, pp. 76–83. DOI: 10.17116/terarkh201587576-83 (in Russian).
18. Bosch J., Abraldes J.G., Fernández M., García-Pagán J.C. Hepatic endothelial dysfunction and abnormal angiogenesis: New targets in the treatment of portal hypertension. *J. Hepatol.*, 2010, vol. 53, no. 3, pp. 558–567. DOI: 10.1016/j.jhep.2010.03.021
19. Lewis J.R., Mohanty S.R. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. *Dig. Dis. Sci.*, 2010, vol. 55, no. 3, pp. 560–578. DOI: 10.1007/s10620-009-1081-0
20. Zhou Y.-J., Li Y.-Y., Nie Y.-Q., Yang H., Zhan Q., Huang J., Shi S.-L., Lai X.-B., Huang H.-L. Influence of polygenic polymorphisms on the susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease of Chinese people. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2010, vol. 25, no. 4, pp. 772–777. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06144x
21. Carulli L., Canedi I., Rondinella S., Lombardini S., Ganazzi D., Fargion S., De Palma M., Lonardo A. [et al.]. Genetic polymorphisms in non-alcoholic fatty liver disease: interleukin-6-174G/C polymorphismis associated with non-alcoholic steatohepatitis. *Dig. Liver Dis.*, 2009, vol. 41, no. 11, pp. 823–828. DOI: 10.1016/j.dld.2009.03.005

22. Giannitrapani L., Soresi M., Giacalone A., Campagna M.E., Marasà M., Cervello M., Marasà S., Montalto G. IL-6-174G/C polymorphism and IL-6 serum levels in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *OMICS*, 2011, vol. 15, no. 3, pp. 183–186. DOI: 10.1089/omi.2010.0093
23. Kurbatova I.V., Dudanova O.P., Topchieva L.V. Rol' polimorfizma rs4537545 (C>T) gena IL6R v razvitiu nealkogol'nogo steatogepatita [The role of the rs4537545 (C>T) polymorphism of the IL6R gene in the development of non-alcoholic fatty liver disease]. *Meditinskii akademicheskii zhurnal*, 2016, vol. 16, no. 4, pp. 59–61 (in Russian).
24. Cengiz M., Yasar D.G., Ergun M.A., Akyol G., Ozendirler S. The role of interleukin-6 and interleukin-8 gene polymorphisms in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepat. Mon.*, 2014, vol. 14, no. 12, pp. e24635. DOI: 10.5812/hepatmon.24635
25. Pivtorak E.V. Narusheniya funktsii endoteliya u bol'nykh nealkogol'noi zhirovoi bolezni pecheni [Endothelial dysfunction in patients with non-alcoholic fatty liver disease]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*, 2014, vol. 102, no. 2, pp. 63a (in Russian).
26. Cetindagli I., Kara M., Tanoglu A., Ozalper V., Aribal S., Hancerli Y., Unal M., Ozari O. [et al.]. Evaluation of endothelial dysfunction in patients with nonalcoholic fatty liver disease: Association of selenoprotein P with carotid intima-media thickness and endothelium-dependent vasodilation. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2017, vol. 41, no. 5, pp. 516–524. DOI: 10.1016/j.clinre.2017.01.005
27. Bulatova I.A. Vaskuloendotelial'nyi faktor rosta i polimorfizm gena VEGF (rs2010963) v patogeneze khroniceskogo virusnogo hepatita C [Vasculoendothelial growth factor and VEGF gene polymorphism (rs2010963) in the pathogenesis of chronic viral hepatitis C]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 2013, no. 6. Available at: <http://www.science-education.ru/113-11340> (07.02.2021) (in Russian).

Bulatova I.A., Pestrenin L.D., Shevlyukova T.P., Miftakhova A.M., Krivtsov A.V., Gulyaeva I.L. On assessing risks of developing and progressing non-alcoholic fatty liver disease using TNF- α , IL-6, and VEGF factors and polymorphisms of their genes. *Health Risk Analysis*, 2022, no. 1, pp. 114–122. DOI: 10.21668/health.risk/2022.1.12.eng

Получена: 28.01.2022

Одобрена: 04.03.2022

Принята к публикации: 11.03.2022