

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86>**МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ ПРИ НАЖБП**

Обзор

Кравченко С.Д.^{1*}, Козлова Н.М.², Тирикова О.В.³¹ORCID : 0000-0002-7697-8609;²ORCID : 0000-0002-0083-8845;¹Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Российская Федерация²Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Российская Федерация³Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (boira.93[at]mail.ru)

Аннотация

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) признана неинфекционной эпидемией современных промышленно-развитых стран. НАЖБП начинается с простого стеатоза и прогрессирует в неалкогольный стеатогепатит, характеризующийся воспалением, фиброзом, апоптозом, окислительным стрессом, перекисным окислением липидов, приводящим в конечном итоге к циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме. Известно, что окислительный стресс играет важную роль в патогенезе и тяжести НАЖБП. Для оценки патологического состояния и прогрессирования заболевания используется ряд маркеров окислительного стресса. В статье рассмотрены несколько биомаркеров окислительного стресса, которые можно измерить в клинической практике и которые могут быть полезны с диагностической целью.

Ключевые слова: печень, НАЖБП, НАСГ, биомаркеры, реактивные формы кислорода, окислительный стресс, перекисное окисление липидов.

OXIDATIVE STRESS EVALUATION METHODS AS POTENTIAL BIOMARKERS IN NAFLD

Review article

Kravchenko S.D.^{1*}, Kozlova N.M.², Tirikova O.V.³¹ORCID : 0000-0002-7697-8609;²ORCID : 0000-0002-0083-8845;¹Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation^{2,2}Irkutsk state medical univercity, Irkutsk, Russian Federation³Irkutsk medical state univercity, Irkutsk, Russian Federation

* Corresponding author (boira.93[at]mail.ru)

Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is recognized as a noninfectious epidemic of modern industrialized countries. NAFLD begins with simple steatosis and progresses to nonalcoholic steatohepatitis, characterized by inflammation, fibrosis, apoptosis, oxidative stress, and lipid peroxygenation, eventually leading to hepatocirrhosis and hepatocellular carcinoma. Oxidative stress is known to play an important role in the pathogenesis and severity of NAFLD. A number of oxidative stress markers are used to evaluate the pathological state and disease progression. This article reviews several oxidative stress biomarkers that can be measured in clinical practice and may be useful for diagnostic purposes.

Keywords: liver, NAFLD, NASH, biomarkers, reactive oxygen species, oxidative stress, lipid peroxygenation.

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – хроническое заболевание печени метаболического генеза у лиц с отсутствием экзогенных факторов токсического поражения печени (напр., экзогенный этанол), обусловленное накоплением липидов в составляющих печеночную дольку клеточных элементах, морфологически подтверждаемое стеатозом, стеатогепатитом, фиброзом или циррозом печени (ЦП) [1]. Диагноз НАЖБП верифицируется при накоплении липидов в виде триглицеридов (ТГ) в количестве более 5–10% массы гепатоцитов или при наличии более 5% печеночных клеток, содержащих депозиты липидов [1]. НАЖБП начинается с простого стеатоза и прогрессирует в неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), характеризующийся воспалением, фиброзом, апоптозом, окислительным стрессом, перекисным окислением липидов [2]. Диагностика НАЖБП имеет особое значение из-за вероятности ее прогрессирования в ЦП или развития гепатоцеллюлярной аденокарциномы (ГЦК) [3], [9]. Кроме того, в случае диагностики на ранних стадиях можно предотвратить обострение заболевания, применяя такие простые подходы, как повышение физической активности и модификация диеты. В настоящее время золотым стандартом диагностики неалкогольной жировой болезни печени является биопсия печени, но этот метод не только инвазивен и дорог, но и имеет такие важные ограничения, как отказ пациентов от исследования ввиду возможных болевых ощущений, риск тяжелых осложнений, при взятии пробы, содержащий неповрежденный участок [4], [5].

Известно, что окислительный стресс (ОС) играет важную роль в патогенезе и утяжеляет течение НАЖБП [6]. Центральную роль в механизмах развития НАЖБП играет индукция ОС, ведущая к стимуляции процессов

перекисного окисления липидов (ПОЛ), гиперпродукции цитокинов и к возникновению воспалительных изменений в печени [7], [8].

Ряд маркеров окислительного стресса используют для оценки патологического состояния и прогрессирования заболевания. Однако, диагностика НАЖБП все еще остается предметом дискуссий из-за наличия различных форм заболевания и морфологических изменений. На данный момент ни один маркер не является достаточным для диагностики и стадирования заболевания, и применение панели, включающей различные типы тестов, может быть более полезным. В этой статье мы рассмотрим несколько биомаркеров окислительного стресса, которые были определены на клиническом и экспериментальном уровнях по данным литературы при НАЖБП.

Окислительный стресс в патогенезе НАЖБП



Рисунок 1 - «Гипотеза множественных ударов» НАЖБП

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.1>

Примечание: оксЛНП – оксидированный липопротеин низкой плотности; ТПР – толл-подобный рецептор; источник: «Глобальные практические рекомендации всемирной гастроэнтерологической организации, неалкогольная жировая болезнь печени и неалкогольный стеатогепатит», 2012

Патофизиология НАЖБП первоначально объяснялась гипотезой «двух ударов» [10], [11]. Согласно этой гипотезе, первый удар отвечает за развитие стеатоза (накопление жира в печени), а второй - за ОС, вызывающий перекисное окисление липидов и прогрессирование от стеатоза до НАСГ [9], [11], [12]. В 2010 году патогенез НАЖБП был пересмотрен, Tilg and Moschen описали теорию «множественных ударов» в развитии НАЖБП (Рис.1) [13], [14]. В этой гипотезе метаболический синдром играет главную роль из-за инсулинорезистентности (ИР) и воспалительного процесса, опосредованного взаимодействием различных белков и иммунной системы [15]. Под воздействием генетических, экологических факторов, ожирения, воздействия микробиоты повышается уровень свободных жирных кислот (СЖК) и холестерина (ХС), развиваются ИР, пролиферация и дисфункция адипоцитов [13], [14]. В «теории множественных ударов» наиболее значимым фактором также является ОС [28].

Увеличенный поток СЖК в печень приводит к повышенному β -окислению СЖК и дисфункции митохондрий с ОС. [14], [15], [16], [17]. В свою очередь, митохондриальная дисфункция увеличивает производство прооксидантных веществ (активных форм кислорода и азота) и воспалительных цитокинов. Компоненты множественных «ударов» еще не полностью определены и требуют дополнительных исследований. Понимание механизма ОС, его регуляции, а также его роли в НАЖБП является важным для исследований, так как поможет в выборе биомаркеров для клинической диагностики НАЖБП.

ОС определяется как дисбаланс между продукцией прооксидативных веществ (свободные радикалы, СР) и состоянием защитной антиоксидантной системы [39].

ОС классифицируется по степени тяжести как «эустресс» (физиологический окислительный стресс) и «дистресс» (токсическое повреждающее молекул). Другими словами, низкое воздействие ОС полезно для окислительно-восстановительной реакции, тогда как высокое воздействие приводит к нарушению окислительно-восстановительной системы и вызывает повреждение важных молекул. При дистрессе высокая концентрация свободных радикалов приводит к повреждению различных клеточных структур за счет их окисления, таких как митохондрии, органеллы, ДНК, белки, липиды и мембраны, таким образом, способствуя развитию многочисленных хронических заболеваний, включая НАЖБП. [18], [20]

Прооксидантные вещества – это активные формы кислорода (АФК), кислородсодержащие молекулы, которые проявляют более высокую химическую реактивность, чем кислород (O_2), и активные формы азота (АФА), химически реактивные виды, содержащие кислород, азот и др. [41] (табл. 1). Некоторые АФК являются свободными радикалами (например, гидроксильный радикал, супероксидный радикал, они образуются *in vivo* преимущественно

митохондриальной дыхательной цепью при окислительном метаболизме энергетических субстратов), другие АФК не являются радикалами (например, перекись водорода, хлорноватистая кислота, перекиси липидов и т.д.) [40].

АФА также подразделяются на свободные радикалы (оксид азота, диоксид азота и т.д.), и не свободные радикалы (триоксид динитрогена, пероксинитрит и др). (табл. 2) [40].

В небольшом количестве АФК являются важными для нормального функционирования иммунного ответа, метаболизма, а также клеточной пролиферации и дифференциации. В избытке АФК и АФА являются звеньями патогенеза при развитии различных заболеваний. Среди них особую патогенетическую роль играют супероксидный радикал и гидроксильный радикал (за счет их высокой химической активности) [29]. АФК и АФА обладают коротким жизненным циклом и поэтому являются сложными для измерения.

Таблица 1 - Основные АФК, имеющие патофизиологическое значение

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.2>

Основные АФК		Источники
Свободные радикалы	Гидрооксид радикал ($\cdot\text{OH}$)	Распад гидропероксидов путем взаимодействия активных молекул кислорода с водой
	Супероксидный радикал ($\text{O}^{\cdot-2}$)	1) Дыхательная цепь митохондрий; 2) Восстановление кислорода ферментативным путём под действием таких ферментов, как NADPH-оксидазы
	Гидроксильный радикал ($\text{HO}\cdot$)	Образуется в реакции Фентона (реакция перекиси водорода с ионами железа, которая используется для разрушения многих органических веществ)
Нерадикальные вещества	Перекись водорода (H_2O_2)	Выделяется активированными макрофагами во время воспаления
	Гипогалоиды (HOCl , NOCl , NOBr , NOI , NOSCN)	Комбинированная активность NADPH-оксидазы и миелопероксидазы в фагоцитах
	Гидроперекиси липидов (LOOH)	Образуется в результате окисления полиненасыщенной жирной кислоты через реакцию липид-пероксильного радикала

Таблица 2 - Основные АФА, имеющие патофизиологическое значение

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.3>

Основные АФА		Источники
Свободные радикалы	Монооксид азота II (NO [•]) (Оксид азота (II))	Синтаза оксида азота - группа ферментов, катализирующих образование оксида азота и цитруллина из аргинина, кислорода и NADPH.
	Диоксид азота (NO [•] 2) (Оксид азота (IV))	Активированные нейтрофилы
Нерадикальные вещества	Азотистый ангидрид (Оксид азота (III)) (N ₂ O ₃)	Вырабатывается в патологических условиях, когда индуцибельная NO-синтаза повышена
	Пероксинитрит (ONOO ⁻)	Образуется при реакции NO с супероксидом и, в свою очередь, вызывает образование других реактивных форм азота
	Нитрит натрия (NO ⁻ 2)	Продукт окисления оксида азота, образующийся при воспалительных заболеваниях
	Ион нитрония (NO ⁺ 2)	Активированные нейтрофилы

Одним из источников СР, принимающих непосредственное участие в ПОЛ, является система цитохромов P450 [30]. СР запускает ПОЛ, приводит к высвобождению малонового диальдегида (МДА) и 4-гидроксинонена, индуцирует образование ряда цитокинов: фактора некроза опухоли альфа (ФНО α), тканевого фактора роста бета (ФР β), интерлейкина 6, 8 (ИЛ 6,8), которые играют ключевую роль в развитии воспаления и последующего фиброза [19], [20]. Чрезмерная продукция СР приводит к некрозу гепатоцитов, развитию воспалительной клеточной инфильтрации в портальных трактах и печеночных дольках. Таким образом, все эндогенные внутриклеточные источники прооксидантных веществ (митохондрии, эндоплазматический ретикулум, цитохром P450, пероксисомы) активируют каскад реакций, приводящих к формированию стеатогепатита и прогрессированию НАЖБП [21].

Продукты ПОЛ, в частности МДА, который может стимулировать производство коллагена, некроз гепатоцитов, провоспалительные цитокины служат активаторами stellatных (звездчатых) клеток, стимуляция которых сопровождается избыточной продукцией компонентов соединительной ткани с развитием перисинусоидального или перипортального фиброза, а при длительно текущем процессе — цирроза печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномы [20], [27].

Измерение маркеров окислительного стресса при НАЖБП

По данным исследований в настоящее время в качестве потенциальных неинвазивных биомаркеров окислительного стресса используются: продукты перекисного окисления липидов (липидный пероксид, малондиальдегид (МДА) и 4-Гидрокси-транс-2-ноненаль), 8-изопростан (продукт свободнорадикального окисления арахидоновой кислоты), продукты окислительной модификации аминокислот (3-нитротирозин, 2-оксогистидин и гидроксипролин), продукты повреждения ДНК, изоформы цитохрома P450, цитокины. [22], [23], [24] (Таблица 3).

Таблица 3 - Потенциальные неинвазивные биомаркеры окислительного стресса

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.4>

Макромолекулы	Окислительный стресс	Продукты повреждения
Липиды	Перекисное окисление липидов	Малоновый диальдегид (МДА)
		4-гидроксиноненал
		Диеновые конъюгаты
		8-изопростан
Белки	Окисление белков, перекрестная связь белков, окислительная модификация аминокислот	Карбонильные соединения (альдегиды, кетоны)
		Нитротирозин
		2-оксогистидин
		Гидроксипролин
ДНК	Фрагментация РНК/ДНК (однонитевые и двунитевые разрывы)	8-Оксо-2-дезоксигуанозин
	Модификация оснований, сахаров	8-Оксогуанин
Цитохром P450	Изоформы цитохрома P-450	CYP2E1, CYP4A
Цитокины	Перекисное окисление липидов, окислительный стресс	ФНО α, ФР β, ИЛ 6,8

Маркеры окислительного стресса измеряются в печени, сыворотке, плазме и, в некоторых случаях, в образцах цельной крови. Основные методы анализа для обнаружения этих маркеров включают колориметрию, ИФА и иммуногистохимию.

По данным литературы в таблице 4 структурированы результаты измерения биомаркеров окислительного стресса, которые были определены на экспериментальных моделях НАЖБП. Были проанализированы результаты исследований в плазме и цельной крови, таких биомаркеров, как продукты повреждения липидов (перекиси липидов, МДА, 8-изопростан), продукты окисления белков, продукт окисления ДНК (8-ОН-дезоксигуанозин), изоформы цитохрома P-450 и цитокины (таблица 4). 8-изопростан также лучше определять в моче, так как в плазме быстрее происходит его распад на молекулы [38]. Повышенный уровень продукта ПОЛ 4-гидроксинонена по данным, найденных нами исследований, был определен только в печени [45].

Концентрация/активность этих биомаркеров повышается, как правило, во всех рассмотренных клинических данных. По данным литературы во всех экспериментальных моделях НАЖБП МДА является наиболее удобным и достоверным биомаркером окислительного стресса [25], [31], [32].

Таблица 4 - Биохимические маркеры ОС, измеряемые при НАЖБП

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.5>

Маркеры оксидативного стресса	Ткань	Динамика показателей
Перекиси липидов	Плазма	↑ [42]
Малоновый диальдегид (МДА)	Плазма	↑ [31, 32]
	Кровь	↑ [25, 32]
8-изопростан	Плазма	↑ [46]
	Моча	↑ [38]
Оксид азота	Кровь	↑ [43]
	Плазма	↑ [44]
Изоформы Р-450	Кровь	↑ [26]
ФНО α	Кровь	↑ [33, 34, 35, 36]
ИЛ 6	Кровь	↑ [37]

Заключение

Окислительный стресс играет важную роль в патофизиологии НАЖБП/НАСГ. Было показано, что несколько маркеров окислительного стресса важны для оценки окислительно-восстановительного состояния при НАЖБП. Среди рассмотренных биомаркеров окислительного стресса наиболее достоверными являются МДА, изоформы цитохрома P-450, 8-изопростан. На данный момент ни один биомаркер не позволяет провести дифференциальную диагностику между стеатозом и НАСГ. Требуется продолжение исследований для разработки панелей биомаркеров для улучшения точности диагностики НАЖБП и НАСГ в частности.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Ефременко Е.С., Омский государственный медицинский университет, кафедра биохимии, заведующий кафедрой, Омск, Российская Федерация
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.6>

Conflict of Interest

None declared.

Review

Efremenko E.S., Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.86.6>

Список литературы / References

1. Лазебник Л.Б. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации для терапевтов, третья версия / Л.Б. Лазебник, Е.В. Голованова, С.В. Туркина и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – № 185(1). – С. 4–52. – DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52.
2. Bellentani S. Is it time to change NAFLD and NASH nomenclature? / S. Bellentani, C. Tiribelli // *Lancet gastroenterol. Hepatol.* – 2017. – № 2. – P. 547–548.
3. Vernon, G. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults / G. Vernon, A. Baranova, Z.M. Younossi // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – № 34. – P. 274–285.
4. Мишина Е.Е. Неалкогольная жировая болезнь печени: причина или следствие инсулинорезистентности? / Е.Е. Мишина, А.Ю. Майоров, П.О. Богомолов и др. // *Сахарный диабет.* – 2017. – № 20(5). – С. 335–343.
5. Rockey D.C. Liver biopsy / D.C. Rockey, S.H. Caldwell, Z.D. Goodman et al. // *Hepatology* – 2009. – № 49. – P. 1017–1044.
6. Sies H. Oxidative Stress / H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones // *Annu Rev Biochem.* – 2017. – Vol. 20. – № 86. – P. 715–748. – DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
7. Зилов А.В. Печень при метаболическом синдроме и инсулинорезистентности: взгляд эндокринолога / А.В. Зилов // *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии.* – 2005. – №5. – С. 14–18.
8. Маммаев С.Н. Цитокиновая система при неалкогольном стеатогепатите / С.Н. Мамаев, Н.В. Багомедова, П.О. Богомолов и др. // *Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2007. – №4. – С. 35–39.
9. Буеверов А.О. Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепатита / А.О. Буеверов, М.В. Маевская // *Клин. перспективы в гастроэнтерол., гепатол.* – 2003. – №3. – С.2–7.
10. Copaci E.M. An disease progression in non-alcoholic steatohepatitis be stopped? / E.M. Copaci, L. Micu et al. // *J. Hepatol.* – 2009. – Vol.50. – Suppl. 1. – P. S538.
11. Day C.P. Steatohepatitis: A tale of two “hits”? / C.P. Day, O.F. James // *Gastroenterology.* – 1998. – № 114. – P. 842–845.
12. Benedict M. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review / M. Benedict, X. Zhang // *World J Hepatol.* – 2017. – Vol. 9 (16). – P. 715–732.
13. Buzzetti E. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) / E. Buzzetti, M. Pinzani, E. Tsochatzis // *Metabolism.* – 2016. – Vol. 65 (8). – P. 1038–1048.
14. Tilg, H. Evolution of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Multiple Parallel Hits Hypothesis / H. Tilg, A.R. Moschen // *Hepatology* – 2010. – № 52. – P. 1836–1846.
15. Жирков И.И. Ключевые моменты этиопатогенеза неалкогольной жировой болезни печени / И.И. Жирков, А.В. Гордиенко, Д.Ю. Сердюков и др. // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* – 2019. – Т. 21. – №2. – С. 219–222. – DOI: 10.17816/brmma25948
16. Sies H. Oxidative Stress / H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones // *Annu Rev Biochem.* – 2017. – № 86. – P. 715–748. – DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
17. Nomura K The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease / K. Nomura, T. Yamanouchi // *J Nutr Biochem.* – 2012. – № 23(3). – P. 203–208.
18. Begriche K. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it / K. Begriche, A. Igoudjil, D. Pessayre // *Mitochondrion.* – 2006. – № 6(1). – P. 1–28.
19. Romá-Mateo C. Oxidative stress and the epigenetics of cell senescence: Insights from progeroid syndromes / C. Romá-Mateo, M. Seco-Cervera, Ibáñez-Cabellos et al. // *Curr. Pharm. Des.* – 2018. – № 24. – P. 4755–4770.
20. Rolo A.P. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / A.P. Rolo, J.S. Teodoro, C.M. Palmeira // *Free Radic Biol Med.* – 2012. – № 52(1). – P. 59–69.

21. Ucar F. The relationship between oxidative stress and nonalcoholic fatty liver disease: Its effects on the development of nonalcoholic steatohepatitis / F. Ucar, S. Sezer, S. Erdogan et al. // *Redox Report*. – 2013. – № 18:4. – P. 127-133. – DOI:10.1179/1351000213Y.0000000050.
22. Birben E. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U.M. Sahiner, Sackesen et al. // *World Allergy Organ J*. – 2012. – № 5. – P. 9–19.
23. Kelley N.S. Do n-3 polyunsaturated fatty acids increase or decrease lipid peroxidation in humans? / N.S. Kelley, Y. Yoshida, K.L. Erickson // *Metab. Syndr. Relat. Disord*. – 2014. – № 12. – P. 403–415.
24. Lawson J.A. Formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation in vivo / J.A. Lawson, J. Rokach, FitzGerald . et al. // *J. Biol. Chem*. – 1999. – № 274. – P. 24441–24444.
25. Звенигородская Л.А. Перекисное окисление липидов и активность липопротеин-ассоциированной фосфолипазы А2 в сыворотке крови у больных неалкогольной жировой болезнью печени / Л.А. Звенигородская, М.В. Шинкин, Т.В. Нилова и др. // *Поликлиника*. – 2015. – № 5-1. – С. 48-52.
26. Emery M.G. CYP2E1 activity before and after weight loss in morbidly obese subjects with nonalcoholic fatty liver disease / M.G. Emery, J.M. Fisher, J.Y. Chien et al. // *Hepatology*. – 2003. – № 38(2). – P. 428–435.
27. Hadizadeh F. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers / F. Hadizadeh, E. Faghihmani, P. Adibi // *World J. Gastrointest. Pathophysiol*. – 2017. – № 8. – P. 11.
28. Friedman S.L. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies / S.L. Friedman, B.A. Neuschwander-Tetri, M. Rinella et al. // *Nat. Med*. – 2018. – № 24. – P. 908–922.
29. Masarone M. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease / M. Masarone, V. Rosato, Dallio et al. // *Oxid. Med. Cell. Longev*. – 2018. – № 11. – P. 9547613.
30. Valko M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfrizt, J. Moncol et al. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol*. – 2007. – Vol. 39 (1). – P. 44–84.
31. Yesilova Z. Systemic markers of lipid peroxidation and antioxidants in patients with nonalcoholic Fatty liver disease / Z. Yesilova, H. Yaman, C. Oktenli et al. // *Am. J. Gastroenterol*. – 2005. – № 100. – P. 850–855.
32. Varma M. Study of serum ferritin, serum uric acid and plasma malondialdehyde (MDA) levels in non-alcoholic fatty liver disease / M. Varma, H. Makwane, P. Kare et al. // *Int. J. Biomed. Adv. Res*. – 2016. – № 7. – P. 169.
33. Aigner E. Pathways underlying iron accumulation in human nonalcoholic fatty liver disease / E. Aigner, I. Theurl, M. Theurl et al. // *Am J Clin Nutr*. – 2008. – № 87. – P. 1374-1383.
34. Bahcecioglu I.H. Levels of serum hyaluronic acid, TNFalpha and IL-8 in patients with nonalcoholic steatohepatitis / I.H. Bahcecioglu, M. Yalniz, H. Ataseven et al. // *Hepatogastroenterology*. – 2005. – № 52. – P. 1549-1553.
35. Lebensztejn D.M. Tumor necrosis factor alpha and its soluble receptors in obese children with NAFLD / D.M. Lebensztejn, D. Kowalczyk, E. Tarasów et al. // *Adv Med Sci*. – 2010. – № 55. – P. 74-79. – DOI: 10.2478/v10039-010-0008-5.
36. Kugelmas M. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E / M. Kugelmas, D.B. Hill, B. Vivian et al. // *Hepatology*. – 2003. – № 38. – P. 413-419. – DOI: 10.1053/jhep.2003.50
37. Jarrar M.H. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease / M.H. Jarrar, A. Baranova, R. Collantes et al. // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2008. – № 27. – P. 412-421. – DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03586.x
38. Morrow J.D. A series of prostaglandin F2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism / J.D. Morrow, K.E. Hill, R.F. Burk et al. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1990. – № 87. – P. 9383-9387.
39. Sies H. Oxidative stress / H. Sies, C. Berndt, D.C. Jones // *Annu. Rev. Biochem*. – 2017. – № 86. – P. 715–748.
40. Sies H. On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development / H. Sies // *Curr. Opin. Toxicol*. – 2018. – № 7. – P. 122–126.
41. Lushchak V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification / V.I. Lushchak // *Chem. Biol. Interact*. – 2014. – № 224C. – P. 164–175.
42. Horoz M. Measurement of the total antioxidant response using a novel automated method in subjects with nonalcoholic steatohepatitis / M. Horoz, C. Bolukbas, F.F. Bolukbas et al. // *BMC Gastroenterol*. – 2005. – № 5. – P. 35.
43. Ergün Y. Nitric Oxide and Nitrotyrosine Levels in Relation with Oxidative Stress-Related Markers in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease / Y. Ergün, E.B. Kurutas, B. Özdil et al. // *Turk. Klin. J. Gastroenterohepatol*. – 2011. – № 18. – P. 1–8.
44. Farhan A.R. Evaluation of Melatonin Hormone and Nitric oxide Levels in Non-alcoholic Fatty Liver Patients in Relation to Obesity and Oxidative Stress / A.R. Farhan // *J. Pharm. Sci. Res*. – 2018. – № 10. – P. 1167–1169.
45. Verbeek J. Dietary intervention, but not losartan, completely reverses non-alcoholic steatohepatitis in obese and insulin resistant mice / J. Verbeek, P. Spincemaille, I. Vanhorebeek et al. // *Lipids Health Dis*. – 2017. – № 23. – P. 46–56.
46. Leghi, G.E. Influence of oxidative stress and obesity in patients with nonalcoholic steatohepatitis / G.E. Leghi, F.A. Domenici, H. Vannucchi // *ARQ Gastroenterol*. – 2015. – № 52. – P. 228–233.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Lazebnik L.B. Nealkogol'naja zhировaja bolezn' pecheni u vzroslyh: klinika, diagnostika, lechenie. Rekomendacii dlja terapevtov, tret'ja versija [Non-alcoholic fatty liver disease in adults: clinic, diagnosis, treatment. Recommendations for therapists, third version] / L.B. Lazebnik, E.V. Golovanova, S.V. Turkina et al. // *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija* [Experimental and clinical gastroenterology]. – 2021. – № 185(1). – P. 4–52. – DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52. [in Russian]
2. Bellentani S. Is it time to change NAFLD and NASH nomenclature? / S. Bellentani, C. Tiribelli // *Lancet gastroenterol. Hepatol*. – 2017. – № 2. – P. 547–548.

3. Vernon, G. Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults / G. Vernon, A. Baranova, Z.M. Younossi // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – № 34. – P. 274–285.
4. Mishina E.E. Nealkogol'naja zhirovaja bolezni' pecheni: prichina ili sledstvie insulinorezistentnosti? [Non-alcoholic fatty liver disease: the cause or consequence of insulin resistance?] / E.E. Mishina, A.Ju. Majorov, P.O. Bogomolov i dr. // *Saharnyj diabet [Diabetes mellitus]*. – 2017. – № 20(5). – P. 335–343. [in Russian]
5. Rockey D.C. Liver biopsy / D.C. Rockey, S.H. Caldwell, Z.D. Goodman et al. // *Hepatology* – 2009. – № 49. – P. 1017–1044.
6. Sies H. Oxidative Stress / H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones // *Annu Rev Biochem.* – 2017. – Vol. 20. – № 86. – P. 715–748. – DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
7. Zilov A.V. Pechen' pri metabolicheskom sindrome i insulinorezistentnosti: vzgljad jendokrinologa [Liver in metabolic syndrome and insulin resistance: an endocrinologist's view] / A.V. Zilov // *Klinicheskie perspektivy gastrojenterologii, gepatologii [Clinical perspectives of gastroenterology, hepatology]*. – 2005. – №5. – P. 14–18. [in Russian]
8. Mammaev S.N. Citokinovaja sistema pri nealkogol'nom steatogepatite [Citokinovaja sistema pri nealkogol'nom steatogepatite] / S.N. Mammaev, N.V. Bagomedova, P.O. Bogomolov et al. // *Ross. zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii [Rus. journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]*. – 2007. – №4. – P. 35–39. [in Russian]
9. Bueverov A.O. Nekotorye patogeneticheskie i klinicheskie voprosy nealkogol'nogo steatogepatita [Some pathogenetic and clinical issues of non-alcoholic steatohepatitis] / A.O. Bueverov, M.V. Maevskaja // *Klin. perspektivy v gastrojenterol., gepatol [Clinical perspectives in gastroenterol., hepatol]*. – 2003. – №3. – P.2–7. [in Russian]
10. Copaci E.M. An disease progression in non-alcoholic steatohepatitis be stopped? / E.M. Copaci, L. Micu et al. // *J. Hepatol.* – 2009. – Vol.50. – Suppl. 1. – P. S538.
11. Day C.P. Steatohepatitis: A tale of two “hits”? / C.P. Day, O.F. James // *Gastroenterology.* – 1998. – № 114. – P. 842–845.
12. Benedict M. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review / M. Benedict, X. Zhang // *World J Hepatol.* – 2017. – Vol. 9 (16). – P. 715–732.
13. Buzzetti E. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) / E. Buzzetti, M. Pinzani, E. Tsochatzis // *Metabolism.* – 2016. – Vol. 65 (8). – P. 1038–1048.
14. Tilg, H. Evolution of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Multiple Parallel Hits Hypothesis / H. Tilg, A.R. Moschen // *Hepatology* – 2010. – № 52. – P. 1836–1846.
15. Zhirkov I.I. Ključevye momenty jetiopatogeneza nealkogol'noj zhirovoj bolezni pecheni [Key points of etiopathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease] / I.I. Zhirkov, A.V. Gordienko, D.Ju. Serdjukov i dr. // *Vestnik Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]*. – 2019. – Vol. 21. – №2. – P. 219–222. – DOI: 10.17816/brmma25948 [in Russian]
16. Sies H. Oxidative Stress / H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones // *Annu Rev Biochem.* – 2017. – № 86. – P. 715–748. – DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
17. Nomura K The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease / K. Nomura, T. Yamanouchi // *J Nutr Biochem.* – 2012. – № 23(3). – P. 203–208.
18. Begriche K. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it / K. Begriche, A. Igoudjil, D. Pessayre // *Mitochondrion.* – 2006. – № 6(1). – P. 1–28.
19. Romá-Mateo C. Oxidative stress and the epigenetics of cell senescence: Insights from progeroid syndromes / C. Romá-Mateo, M. Seco-Cervera, Ibáñez-Cabellos et al. // *Curr. Pharm. Des.* – 2018. – № 24. – P. 4755–4770.
20. Rolo A.P. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / A.P. Rolo, J.S. Teodoro, C.M. Palmeira // *Free Radic Biol Med.* – 2012. – № 52(1). – P. 59–69.
21. Ucar F. The relationship between oxidative stress and nonalcoholic fatty liver disease: Its effects on the development of nonalcoholic steatohepatitis / F. Ucar, S. Sezer, S. Erdogan et al. // *Redox Report.* – 2013. – № 18:4. – P. 127–133. – DOI:10.1179/1351000213Y.0000000050.
22. Birben E. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U.M. Sahiner, Sackesen et al. // *World Allergy Organ J.* – 2012. – № 5. – P. 9–19.
23. Kelley N.S. Do n-3 polyunsaturated fatty acids increase or decrease lipid peroxidation in humans? / N.S. Kelley, Y. Yoshida, K.L. Erickson // *Metab. Syndr. Relat. Disord.* – 2014. – № 12. – P. 403–415.
24. Lawson J.A. Formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation in vivo / J.A. Lawson, J. Rokach, FitzGerald . et al. // *J. Biol. Chem.* – 1999. – № 274. – P. 24441–24444.
25. Zvenigorodskaja L.A. Perekisnoe okislenie lipidov i aktivnost' lipoprotein-associirovannoj fosfolipazy A2 v syvorotke krovi u bol'nyh nealkogol'noj zhirovoj bolezni'ju pecheni [Lipid peroxidation and lipoprotein-associated phospholipase A2 activity in blood serum in patients with non-alcoholic fatty liver disease] / L.A. Zvenigorodskaja, M.V. Shinkin, T.V. Nilova et al. // *Poliklinika [Polyclinic]*. – 2015. – № 5-1. – P. 48–52. [in Russian]
26. Emery M.G. CYP2E1 activity before and after weight loss in morbidly obese subjects with nonalcoholic fatty liver disease / M.G. Emery, J.M. Fisher, J.Y. Chien et al. // *Hepatology.* – 2003. – № 38(2). – P. 428–435.
27. Hadizadeh F. Nonalcoholic fatty liver disease: Diagnostic biomarkers / F. Hadizadeh, E. Faghihimani, P. Adibi // *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* – 2017. – № 8. – P. 11.
28. Friedman S.L. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies / S.L. Friedman, B.A. Neuschwander-Tetri, M. Rinella et al. // *Nat. Med.* – 2018. – № 24. – P. 908–922.
29. Masarone M. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease / M. Masarone, V. Rosato, Dallio et al. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2018. – № 11. – P. 9547613.

30. Valko M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol et al. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 39 (1). – P. 44–84.
31. Yesilova Z. Systemic markers of lipid peroxidation and antioxidants in patients with nonalcoholic Fatty liver disease / Z. Yesilova, H. Yaman, C. Oktenli et al. // *Am. J. Gastroenterol.* – 2005. – № 100. – P. 850–855.
32. Varma M. Study of serum ferritin, serum uric acid and plasma malondialdehyde (MDA) levels in non-alcoholic fatty liver disease / M. Varma, H. Makwane, P. Kare et al. // *Int. J. Biomed. Adv. Res.* – 2016. – № 7. – P. 169.
33. Aigner E. Pathways underlying iron accumulation in human nonalcoholic fatty liver disease / E. Aigner, I. Theurl, M. Theurl et al. // *Am J Clin Nutr.* – 2008. – № 87. – P. 1374-1383.
34. Bahcecioglu I.H. Levels of serum hyaluronic acid, TNFalpha and IL-8 in patients with nonalcoholic steatohepatitis / I.H. Bahcecioglu, M. Yalniz, H. Ataseven et al. // *Hepatogastroenterology.* – 2005. – № 52. – P. 1549-1553.
35. Lebensztejn D.M. Tumor necrosis factor alpha and its soluble receptors in obese children with NAFLD / D.M. Lebensztejn, D. Kowalczyk, E. Tarasów et al. // *Adv Med Sci.* – 2010. – № 55. – P. 74-79. – DOI: 10.2478/v10039-010-0008-5.
36. Kugelmas M Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E / M. Kugelmas, D.B. Hill, B. Vivian et al. // *Hepatology.* – 2003. – № 38. – P. 413-419. – DOI: 10.1053/jhep.2003.50
37. Jarrar M.H. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease / M.H. Jarrar, A. Baranova, R. Collantes et al. // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2008. – № 27. – P. 412-421. – DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03586.x
38. Morrow J.D. A series of prostaglandin F2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism / J.D. Morrow, K.E. Hill, R.F. Burk et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1990. – № 87. – P. 9383-9387.
39. Sies H. Oxidative stress / H. Sies, C. Berndt, D.C. Jones // *Annu. Rev. Biochem.* – 2017. – № 86. – P. 715–748.
40. Sies H. On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development / H. Sies // *Curr. Opin. Toxicol.* – 2018. – № 7. – P. 122–126.
41. Lushchak V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification / V.I. Lushchak // *Chem. Biol. Interact.* – 2014. – № 224C. – P. 164–175.
42. Horoz M. Measurement of the total antioxidant response using a novel automated method in subjects with nonalcoholic steatohepatitis / M. Horoz, C. Bolukbas, F.F. Bolukbas et al. // *BMC Gastroenterol.* – 2005. – № 5. – P. 35.
43. Ergün Y. Nitric Oxide and Nitrotyrosine Levels in Relation with Oxidative Stress-Related Markers in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease / Y. Ergün, E.B. Kurutas, B. Özdil et al. // *Turk. Klin. J. Gastroenterohepatol.* – 2011. – № 18. – P. 1–8.
44. Farhan A.R. Evaluation of Melatonin Hormone and Nitric oxide Levels in Non-alcoholic Fatty Liver Patients in Relation to Obesity and Oxidative Stress / A.R. Farhan // *J. Pharm. Sci. Res.* – 2018. – № 10. – P. 1167–1169.
45. Verbeek J. Dietary intervention, but not losartan, completely reverses non-alcoholic steatohepatitis in obese and insulin resistant mice / J. Verbeek, P. Spincemaille, I. Vanhorebeek et al. // *Lipids Health Dis.* – 2017. – № 23. – P. 46–56.
46. Leghi, G.E. Influence of oxidative stress and obesity in patients with nonalcoholic steatohepatitis / G.E. Leghi, F.A. Domenici, H. Vannucchi // *ARQ Gastroenterol.* – 2015. – № 52. – P. 228–233.