

DOI: 10.26693/JMBS06.05.239

УДК 616.36-003.826-078:616.12-008.331.1

Рождественська А. О., Железнякова Н. М.

## КЛАСТЕРНИЙ АНАЛІЗ ЯК МЕТОД ОЦІНКИ ТЯЖКОСТІ ПЕРЕБІГУ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ У ПАЦІЄНТІВ З ГІПЕРТОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ

Харківський національний медичний університет

**Мета дослідження.** Визначити можливості кластерного аналізу як методу оцінки тяжкості перебігу неалкогольною жирною хворобою печінки за умови її коморбідності з гіпертонічною хворобою.

**Матеріали та методи.** У кластерний аналіз були включені 63 пацієнти з неалкогольним стеатогепатитом та гіпертонічною хворобою, у якості групи порівняння були обстежені 62 пацієнти з ізолюваним неалкогольним стеатогепатитом, а для контрольних результатів – 20 практично здорових осіб. Усім пацієнтам було виміряно об'єм талії, визначений систолічний та діастолічний артеріальний тиск, проведені лабораторні дослідження, імуноферментним методом визначені плазматичні рівні калістатину, інтерлейкіну-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) та інтерлейкіну-10 (IL-10). Для визначення товщини правої, лівої та хвостатої часток печінки проведено ультразвукове дослідження органів черевної порожнини, а для визначення фібротичних змін печінки – двовимірну зсувнохвильову еластометрію з розрахуванням показника жорсткості печінкової паренхіми (E, кПа). Кластерний аналіз проводили за допомогою ієрархічного методу та алгоритму k-середніх з попередньою стандартизацією даних.

**Результати.** За результатами кластеризації було виділено 3 підгрупи пацієнтів з неалкогольною жирною хворобою печінки та гіпертонічною хворобою. Кластер 1 відрізнявся низькими систолічним та діастолічним артеріальним тиском, невеликим об'ємом талії, невисокими рівнями аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатаміно-трансферази (АСТ), середнім вмістом IL-1 $\beta$ , низькою активністю калістатину та IL-10, ознаками гепатомегалії та підвищеною жорсткістю печінкової паренхіми. До кластера 2 були віднесені пацієнти з найвищими показниками систолічного та діастолічного артеріального тиску, середнім об'ємом талії, найвищими рівнями АЛТ, АСТ та IL-1 $\beta$ , низькою активністю калістатину та IL-10, найбільш виразними ознаками гепатомегалії на УЗД та найгіршими результатами еластометрії печінки. Кластер 3 відрізнявся середнім систолічним та діастолічним артеріальним тиском, мінімальним вмістом АЛТ, АСТ та IL-1 $\beta$ , найвищими рівнями калістатину та IL-10, мінімальними ознаками гепатомегалії та найнижчими значеннями жорсткості печінкової

паренхіми. Кластери достовірно відрізнялись від групи контролю за всіма ознаками, від групи з ізолюваною неалкогольною жирною хворобою печінки – за усіма параметрами, окрім об'єму талії та IL-1 $\beta$ , а між собою варіювали щонайменше за 4, а якнайбільше – за 9 ознаками.

**Висновки.** Основними маркерами вираженого печінкового фіброзу можна вважати підвищений систолічний та діастолічний артеріальний тиск, збільшення АЛТ та АСТ, зниження активності калістатину та IL-10 та ознаки гепатомегалії за даними УЗД.

**Ключові слова:** неалкогольна жирова хвороба печінки, неалкогольний стеатогепатит, гіпертонічна хвороба, кластерний аналіз, маркери фіброзу печінки

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження виконане в рамках науково-дослідної роботи кафедри внутрішньої медицини №1 ХНМУ «Клінічне значення маркерів запалення та метаболічних порушень у хворих на неалкогольну жирну хворобу печінки з урахуванням коморбідності», № державної реєстрації 0118U000937.

**Вступ.** Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) вражає близько 25% дорослого населення світу [1]. Захворювання у стадії неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) пов'язане зі значним ризиком розвитку тяжких ускладнень для пацієнтів. Значна увага приділяється тісному взаємозв'язку між НАЖХП та гіпертонічною хворобою (ГХ), яка вражає близько 30% дорослого населення світу [2]. Відомо, що у пацієнтів з НАСГ значно зростає ризик серцево-судинної смертності, що доводить важливість раннього виявлення фібротичних змін печінки при НАЖХП [3].

Останнім часом активно проводяться пошуки нових сироваткових та плазматичних біомаркерів для неінвазивної діагностики НАЖХП [4]. Важливу роль в патогенезі НАЖХП відіграють цитокіни, зокрема, підвищений синтез прозапального інтерлейкіну-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) обумовлює розвиток окисного стресу, жирового запалення, формування запальних інфільтратів, стеатозу та фіброзу [5; 6]. Водночас, існують дані, що інтерлейкін-10 (IL-10)

як протизапальний цитокін виконує захисну роль у печінковому фіброгенезі [7]. Доведено, що у пацієнтів з НАЖХП спостерігається дисбаланс прозапальних та протизапальних цитокінів, що посилюється з прогресуванням змін печінкової паренхіми [8]. Також останнім часом при дослідженні НАЖХП вивчається роль калістатина – члена сімейства інгібіторів серинових протеаз (SERPIN), який синтезується та експресується переважно у печінці та розподіляється між структурами, які пов'язані з функцією серцево-судинної системи [9]. Доведено, що цей протеїн виконує протизапальну, антиоксидантну та антифібротичну функції, а також захищає органи від ушкодження органів під впливом артеріальної гіпертензії [10; 11].

Одним з методом інтелектуального аналізу даних є кластеризація – ця техніка базується на розподілі параметрів на групи або кластери, при чому внутрішньокласова схожість сприймається як мінімум, а міжкласова схожість – як максимум. Кластерний аналіз може використовуватись для розробки багатьох інструментів автоматичної медичної діагностики і вважається, що він дозволяє знаходити закономірності у наборі даних пацієнтів із захворюваннями печінки [12].

**Мета дослідження.** Визначити можливості кластерного аналізу як методу оцінки тяжкості перебігу НАЖХП за умови її коморбідності з ГХ.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження проводилося на базі ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України» з 01.09.2018р. по 31.01.2020р.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Дослідження було схвалено комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол №8 від 03.10.2018р.). Всі учасники були інформовані щодо цілей, організації, методів дослідження та підписали інформовану згоду щодо участі у ньому, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Було обстежено 115 хворих з НАЖХП на стадії неалкогольного стеатогепатиту, яких було розділено на дві групи: основна – 63 пацієнти з коморбідністю НАЖХП та ГХ (32 чоловіки та 31 жінка, середній вік – 48,4 років (95% ДІ 47,2; 49,6)) та група порівняння – 52 пацієнти з ізольованою НАЖХП (25 чоловіків та 27 жінок, середній вік – 48,3 (95% ДІ 46,8; 49,8)). Групу контролю склали 20 практично здорових добровольців (12 жінок та

8 чоловіків, середній вік – 47,1 років (95% ДІ 45,1; 49,1). Статистично значущих відмінностей за віком ( $p = 0,908$ ) та статтю ( $df = 1$ ,  $\chi^2 = 0,084$ ,  $p = 0,772$ ) між групами пацієнтів не було.

Усім пацієнтам було виміряно масу тіла, зріст та об'єм талії (ОТ), визначені цифри систолічного (САТ) та діастолічного артеріального тиску (ДАТ). За допомогою спектрофотометричних та колориметричних методів були визначені біохімічні показники (у тому числі, аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ). Рівні калістатину, інтерлейкіну-1 $\beta$  та інтерлейкіну-10 в плазмі пацієнтів визначали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням відповідних наборів реактивів (Human SERPINA4 (Kallistatin) ELISA Kit (Elabscience, USA), Human IL-1 $\beta$  (Interleukin 1 Beta) ELISA Kit (Elabscience, USA) and the Human IL-10 (Interleukin 10) ELISA Kit (Elabscience, USA)).

Ультразвукове обстеження органів черевної порожнини (УЗД ОЧП), а також двовимірну ультразвукову стеатометрію та зсувнхвильову еластографію/еластометрію печінки проводили за допомогою скануючої системи Soneus P7 (Ultrasign, Україна). Під час проведення УЗД ОЧП оцінювали такі параметри, як товщина правої (ТПЧ), лівої (ТЛЧ) та хвостатої (ТХЧ) часток печінки, діаметр портальної (VP), нижньої порожнистої (VCI) та центральної печінкової вен (ЦПВ), а також діаметр загального жовчного протоку (ЗЖП). За допомогою режиму «SE» виконували двовимірну еластометрію зсувної хвилі – визначали показник жорсткості печінкової паренхіми (E, кПа) з ранжуванням результатів за шкалою METAVIR для визначення вираженості фіброзу печінки.

Отримані результати були статистично оброблені за допомогою пакетів комп'ютерних програм «Excel 2019» (Microsoft), «STATISTICA 8.0.» (StatSoft Inc.). Безперервні змінні величини представлені у вигляді середнього (M) або медіани (Me) в залежності від відповідності вибірки закону нормального розподілу та довірчих інтервалів (ДІ) із заданою надійністю  $\gamma = 0,95$  (95 % ДІ). Достовірність відмінностей між відносними показниками у групах підтверджували за допомогою критерія  $\chi^2$  Пірсона.

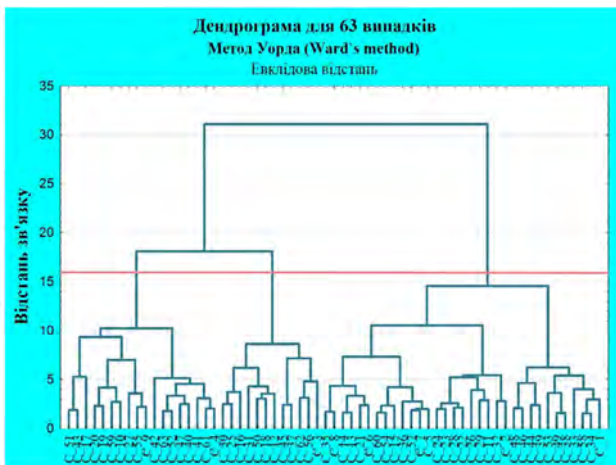
З метою визначення найбільш значущих характеристик для кластеризації пацієнтів з НАЖХП та ГХ попередньо використовували факторний аналіз, у який було включено 33 характеристики – дані анамнестичного, клінічного, лабораторного та інструментального обстеження. У кластерний аналіз за допомогою ієрархічного агломеративного методу та ітераційного алгоритму k-середніх було включено 12 параметрів, які створювали максимальне навантаження визначених факторів. Для ієрархічної кластеризації був використаний метод

Уорда, який розбиває сукупність даних на більшу кількість дрібних кластерів.

З метою вирішення проблеми неоднорідності одиниць виміру параметрів застосовували метод Z-нормування змінних. Оптимальну кількість кластерів оцінювали за допомогою візуального аналізу дендрограми результатів ієрархічної кластеризації та за графічним зображенням списку поєднання параметрів методом Уорда. Аналіз достовірності різниці між групами проводили за допомогою U-критерія Манна-Уїтні. Критичним рівнем значущості при перевірці статистичних гіпотез вважали  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження.** Для кластерного аналізу були відібрані такі характеристики пацієнтів, як показники артеріального тиску (САТ, ДАТ), антропометричний маркер абдомінального ожиріння (ОТ), рівні печінкових трансаміназ (АЛТ, АСТ), прозапальні та протизапальні плазматичні біомаркери (калістатин (КС), IL-1 $\beta$ , IL-10), результати виміру товщини часток печінки під час УЗД ОЧП (ТПЧ, ТЛЧ, ТХЧ), а також показник зсувно-вильової еластометрії (середня жорсткість паренхіми печінки, E).

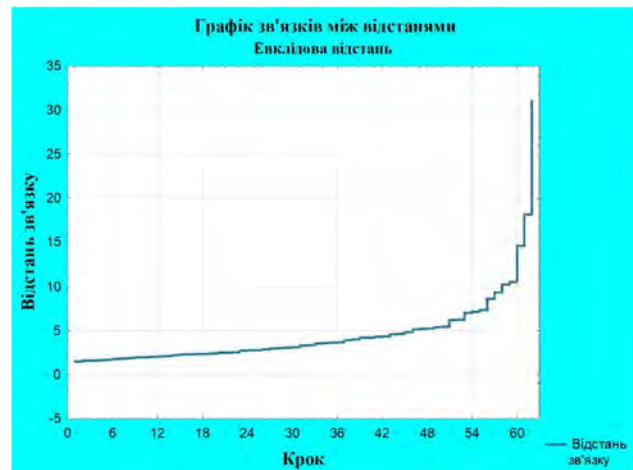
На графіку у вигляді дендрограми (рис. 1) представлені кластери, отримані в процесі роботи алгоритму ієрархічної кластеризації, а також їх «близькість» відносно один одного. Горизонтальна лінія обрізає дендрограму на рівні оптимального поділу даних, виділяючи три кластери.



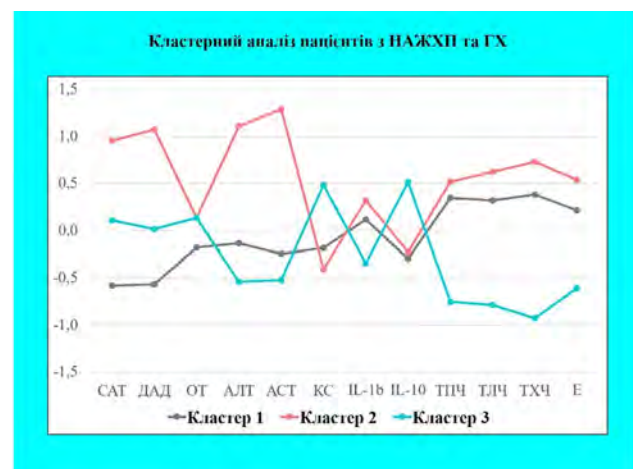
**Рис. 1** – Дендрограма ієрархічної класифікації обстежених пацієнтів з НАЖХП та ГХ (Евклідова відстань, метод Уорда)

Визначення точок перегину на графіку поєднання параметрів методом Уорда (рис. 2) виявило, що за даними характеристиками доцільним є розподіл пацієнтів з НАЖХП та ГХ на 2-3 кластери.

З огляду на дані візуального аналізу графіків при кластеризації методом k-середніх було закладено розподіл даних на 3 кластери (рис. 3).



**Рис. 2** – Графічне зображення залежності об'єктів та відстані між ними при кластеризації методом Уорда



**Рис. 3** – Графічне зображення співвідношень стандартизованих параметрів у кластерах пацієнтів з НАЖХП та ГХ

Перший кластер відрізнявся найнижчими цифрами САТ та ДАТ, найменшим значенням об'єму талії (ОТ) та середніми показниками активності печінкових трансаміназ. Рівень прозапального цитокіну IL-1 $\beta$  у першому кластері мав середні значення, а протизапальні біомаркери виявляли відносно низьку активність – рівень IL-10 у цій підгрупі пацієнтів був визначний як найнижчий. УЗД-ознаки збільшення печінки у пацієнтів, які були віднесені до першого кластера, були одними з найнесприятливіших та майже сягали максимальних значень. Показники середньої жорсткості печінкової паренхіми у пацієнтів з першого кластера були достатньо високими (7,71 кПа (95% ДІ 7,25; 8,31), стадія F2 за METAVIR), що свідчило про значну активність процесів фіброзування у печінці.

До другого кластера у результаті аналізу були віднесені пацієнти з найвищими показниками САТ та ДАТ, однак ОТ у цій підгрупі обстежених не відрізнявся від пацієнтів з першого кластеру. Значно підвищеними у цьому кластері виявились рівні печінкових трансаміназ – вміст АЛТ та АСТ у цій

підгрупі сягав максимальних значень. У пацієнтів 2 кластера було виявлено найвищий рівень прозапального цитокіну IL-1 $\beta$ , найнижчу активність протизапального біомаркера калістатина та відносно низький вміст IL-10 у поєднанні з найбільш виразними УЗ-ознаками гепатомегалії за всіма параметрами товщини часток печінки. Аналіз результатів еластометрії у цій підгрупі пацієнтів виявив найвищі показники жорсткості печінкової паренхіми (7,92 кПа (95% ДІ 7,47; 9,06), стадія F2 за METAVIR), що свідчило про розвиток значних фібротичних змін печінки у цій підгрупі пацієнтів з НАЖХП та ГХ.

Пацієнти з третього кластера відрізнялись середнім САТ та ДАТ та мінімальною активністю стеатогепатиту за критерієм вмісту печінкових транс-

аміназ. У представників цієї підгрупи були виявлені найбільш помітні сприятливі зміни досліджуваних біомаркерів: прозапальна активність IL-1 $\beta$  була мінімальною у порівнянні з пацієнтами інших кластерів, у той час як рівні калістатину та IL-10 були найвищими, що зумовило найнижчу виразність запальних змін печінкової паренхіми. Також у цьому кластері пацієнтів були визначені мінімальні значення товщини часток печінки за даними УЗД, а оцінка результатів еластографії свідчила про найнижчі результати виміру середньої жорсткості печінкової паренхіми (6,73 кПа (95% ДІ 5,98; 7,14), стадія F1 за METAVIR) та, відповідно, найкращі прогнози за показниками процесу фіброзування печінки у цій групі пацієнтів з НАЖХП та ГХ (табл. 1).

**Таблиця 1** – Характеристики кластерів пацієнтів з НАЖХП та ГХ, отриманих методом k-середніх

Параметр	Кластер 1 (n = 19)	Кластер 2 (n = 12)	Кластер 3 (n = 11)
САТ, мм рт.ст.	135,00 (95% ДІ 134,35; 137,87)	145,00 (95% ДІ 141,79; 146,78)	140,00 (95% ДІ 137,90; 141,64)
ДАТ, мм рт.ст.	80,00 (95% ДІ 78,41; 82,70)	92,50 (95% ДІ 88,66; 94,91)	85,00 (95% ДІ 82,18; 86,91)
ОТ, см	84,00 (95% ДІ 80,68; 86,43)	90,00 (95% ДІ 80,39; 92,33)	87,50 (95% ДІ 81,97; 90,76)
АЛТ, О/л	79,00 (95% ДІ 77,13; 86,13)	100,00 (95% ДІ 92,64; 105,08)	76,00 (95% ДІ 71,25; 80,75)
АСТ, О/л	72,00 (95% ДІ 67,26; 75,71)	95,00 (95% ДІ 86,66; 101,06)	66,00 (95% ДІ 63,50; 71,41)
КС, нг /мл	61,18 (95% ДІ 56,99; 67,83)	57,80 (95% ДІ 50,25; 67,94)	70,29 (95% ДІ 66,44; 77,62)
IL-1 $\beta$ , пг/мл	18,34 (95% ДІ 16,86; 21,16)	18,26 (95% ДІ 16,35; 23,84)	16,30 (95% ДІ 14,88; 18,25)
IL -10, пг/ мл	12,01 (95% ДІ 11,15; 12,53)	11,68 (95% ДІ 10,40; 13,56)	13,57 (95% ДІ 12,91; 13,97)
ТПЧ, см	15,00 (95% ДІ 14,82; 15,82)	15,05 (95% ДІ 14,64; 16,55)	13,80 (95% ДІ 13,14; 14,11)
ТЛЧ, см	10,20 (95% ДІ 9,61; 10,59)	11,15 (95% ДІ 9,65; 11,55)	8,45 (95% ДІ 7,75; 8,84)
ТХЧ, см	2,50 (95% ДІ 2,41; 2,62)	2,65 (95% ДІ 2,51; 2,74)	2,10 (95% ДІ 2,03; 2,20)
Е, кПа	7,71 (95% ДІ 7,25; 8,31)	7,92 (95% ДІ 7,47; 9,06)	6,73 (95% ДІ 5,98; 7,14)

Аналіз достовірності різниці між характеристиками пацієнтів у кластерах свідчив, що пацієнти з виділених підгруп достовірно відрізнялись між собою щонайменше за 4 параметрами (кластери 1 і 2), а якнайбільше – за 9 ознаками (кластери 2 і 3). За показниками обсягу талії не було виявлено достовірних відмінностей як між визначеними кластерами, так і між визначеними підгрупами пацієнтами з НАЖХП та ГХ та групою ізольованої НАЖХП. Також не було визначено достовірних різниць між кластерами за вмістом IL-1 $\beta$ , однак у кластері 1 рівень прозапального цитокіна був достовірно вищим, ніж у групі з ізольованою НАЖХП. Також спостерігались достовірні відмінності між усіма параметрами у кластерах пацієнтів з НАЖХП та ГХ та контрольними значеннями (табл. 2).

**Обговорення отриманих результатів.** За допомогою кластерного аналізу групи пацієнтів були поділені на три кластери, які значимо різнилися між собою за показниками вираженості артеріальної гіпертензії, антропометричними ознаками абдомінального ожиріння, вмістом печінкових трансаміназ, прозапальних та протизапальних біомаркерів, ознаками гепатомегалії на УЗД та показниками жорсткості печінкової паренхіми.

Низьку активність печінкових трансаміназ і високий вміст калістатину та IL-10, а також відносно невеликі розміри печінки за даними УЗД, ймовірно, можна вважати ознаками незначних фібротичних змін печінки (кластер 3), у той час як суттєве збільшення артеріального тиску, активності АЛТ та АСТ, зниження активності протизапальних біомаркерів та значне збільшення печінки за даними УЗД можна розглядати як основні маркери вираженого печінкового фіброзу (кластер 2). Також звертав на себе увагу факт, що навіть за умови відносно низьких рівнів САТ та ДАТ та помірної лабораторної активності стеатогепатиту зниження вмісту протизапальних біомаркерів (калістатин, IL-10) та збільшення розмірів печінки свідчили про посилення процесів фіброзування в печінці пацієнтів з коморбідністю НАЖХП та ГХ (кластер 1).

Отримані результати співпадають з думкою авторів про те, що САТ та ДАТ є незалежними факторами ризику прогресування НАЖХП [13; 14]. Важливу роль печінкових трансаміназ у визначенні фіброзу печінки підтверджують результати численних робіт про взаємозв'язок між АЛТ, АСТ та їх співвідношення (АСТ/АЛТ) та ступенем

**Таблиця 2** – Достовірність різниці показників між кластерами пацієнтів з НАЖХП та ГХ та іншими групами за U-критерієм Манна-Уїтні, p

Параметр	Достовірність різниці за U-критерієм Манна-Уїтні, p								
	p <sub>1-2</sub>	p <sub>1-3</sub>	p <sub>2-3</sub>	p <sub>1-4</sub>	p <sub>2-4</sub>	p <sub>3-4</sub>	p <sub>1-5</sub>	p <sub>2-5</sub>	p <sub>3-5</sub>
САТ	0,000	0,018	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ДАТ	0,001	0,016	0,001	0,000	0,000	0,000	0,035	0,000	0,000
ОТ	0,425	0,315	0,833	0,816	0,327	0,249	0,000	0,000	0,000
АЛТ	0,000	0,082	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000
АСТ	0,000	0,084	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
КС	0,518	0,020	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IL-1β	0,630	0,117	0,095	0,041	0,056	0,804	0,000	0,000	0,000
IL-10	0,945	0,002	0,105	0,000	0,014	0,191	0,000	0,000	0,000
ТПЧ	0,741	0,000	0,001	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000
ТЛЧ	0,131	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,000
ТХЧ	0,138	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000	0,000	0,000
Е	0,394	0,005	0,003	0,000	0,000	0,154	0,000	0,000	0,000

**Примітки:** p < 0,05 – різниця є статистично достовірною між групами; p<sub>1-2</sub> – різниця між 1 та 2 кластерами пацієнтів з НАЖХП та ГХ; p<sub>1-3</sub> – різниця між 1 та 3 кластерами пацієнтів з НАЖХП та ГХ; p<sub>2-3</sub> – різниця між 2 та 3 кластерами пацієнтів з НАЖХП та ГХ; p<sub>1-4</sub>, p<sub>2-4</sub>, p<sub>3-4</sub> – різниця між відповідними кластерами пацієнтів з НАЖХП та ГХ та групою пацієнтів з ізольованою НАЖХП; p<sub>1-5</sub>, p<sub>2-5</sub>, p<sub>3-5</sub> – різниця між відповідними кластерами пацієнтів з НАЖХП та ГХ та групою контролю.

вираженості змін печінкової паренхіми у пацієнтів з НАЖХП [14; 15; 16].

Відсутність достовірної різниці між кластерами за показниками ОТ та рівнем IL-1β може свідчити про важливість визначення додаткового впливу інших показників на перебіг НАЖХП на тлі ГХ при аналізі характеристик даної категорії пацієнтів. Літературні дані свідчать про більш важливу клінічну роль показника співвідношення ОТ до зросту у пацієнтів з НАЖХП [17], однак ізольовані результати виміру ОТ вважаються предикторами змін моделей харчування та розвитку ускладнень у даної категорії пацієнтів [18; 19]. Клінічне значення результатів виміру товщини часток печінки у пацієнтів з неалкогольним стеатогепатитом також підтверджують інші дослідники, що свідчить про правильний підбір параметрів для кластерного аналізу [20; 21].

Під час подібного кластерного розподілу пацієнтів з НАЖХП та ГХ Babak O. et al. також визначили важливий вплив маркерів абдомінального ожиріння та рівнів артеріального тиску на кластеризацію даної категорії пацієнтів. Однак увага дослідників була зосереджена на ранжуванні випадків за виразністю жирових змін печінкової паренхіми і не враховувала ознаки фіброзування. Також у цьому дослідженні були враховані такі важливі параметри, як дотримання пацієнтами з НАЖХП та ГХ дієтичних рекомендацій та споживання ними

алкоголевмісних напоїв, що може слугувати додатковими факторами ризику прогресування жирового стеатозу та фіброзу печінки, і їх урахування може бути перспективою подальших досліджень [22].

**Висновки.** Обстежена в даній роботі група пацієнтів з НАЖБП і ГХ є неоднорідною за рядом аналізованих клінічних, лабораторних та інструментальних параметрів. Кластеризація результатів обстеження пацієнтів демонструє статистично значущий розподіл груп відповідно до тяжкості фіброзу печінки. Основними маркерами вираженого печінкового фіброзу можна вважати підвищені рівні артеріального тиску, збільшення АЛТ та АСТ, зниження активності протизапальних біомаркерів (калістатин, IL-10) та ознаки гепатомегалії за даними УЗД. Кластерний розподіл пацієнтів з НАЖХП та ГХ відкриває перспективи в розробці нових інтегральних методів оцінки тяжкості змін печінкової паренхіми, прогнозу перебігу та результату коморбідності НАЖХП та ГХ, а також вибору найбільш ефективної тактики ведення даної категорії пацієнтів.

**Перспективи подальших досліджень.** Вектором подальших досліджень може бути визначення додаткових факторів для аналізу зазначеної категорії пацієнтів для більш точного визначення ризику розвитку та прогресування фіброзу печінки за умови коморбідності НАЖХП та ГХ.

## References

- Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2020;5:16. PMID: 32258520 PMCID: PMC7063528. doi: 10.21037/tgh.2019.09.08
- Zhao YC, Zhao GJ, Chen Z, She ZG, Cai J, Li H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease An Emerging Driver of Hypertension. *Hypertension.* 2020;75:275-284. PMID: 31865799. doi: 10.1161/hypertensionaha.119.13419

3. Choudhary NS, Duseja A. Screening of Cardiovascular Disease in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Whom and How? *J Clin Exp Hepatol*. 2019 Jul-Aug;9(4):506-514. PMID: 31516267. PMCID: PMC6728527. doi: 10.1016/j.jceh.2019.02.005
4. Vilar-Gomez E, Chalasani N. Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *J Hepatol*. 2018 Feb;68(2):305-315. PMID: 29154965. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.013
5. Manna FA, Abdel-Wahhab KG. Physiological potential of cytokines and liver damages. *Hepatom Res*. 2016;2:131-143. doi: 10.20517/2394-5079.2015.58
6. Kaneko N, Kurata M, Yamamoto T, Morikawa S, Masumoto J. The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflamm Regener*. 2019; 39: 12. PMID: 31182982. PMCID: PMC6551897. doi: 10.1186/s41232-019-0101-5
7. Steen EH, Wang X, Balaji S, Butte MJ, Bollyky PL, Keswani SG. The Role of the Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. *Adv Wound Care*. 2020 Apr 1;9(4):184-198. PMID: 32117582. PMCID: PMC7047112. doi: 10.1089/wound.2019.1032
8. Bocsan IC, Milaciu MV, Pop RM, Vesa SC, Ciumarnean L, Matei DM, et al. Cytokines Genotype-Phenotype Correlation in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:4297206. PMID: 28852433. PMCID: PMC5568617. doi: 10.1155/2017/4297206
9. Chao J, Guo Y, Chao L. Protective Role of Endogenous Kallistatin in Vascular Injury and Senescence by Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:4138560. PMID: 30622668. PMCID: PMC6304815. doi: 10.1155/2018/4138560
10. Gateva A, Assyov Y, Velikova T, Kamenov Z. Increased kallistatin levels in patients with obesity and prediabetes compared to normal glucose tolerance. *Endocr Res*. 2017;42(2):163-168. PMID: 28406338. doi: 10.1080/07435800.2017.1286671
11. Chao J, Guo Y, Chao L. Protective Role of Endogenous Kallistatin in Vascular Injury and Senescence by Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:4138560. PMID: 30622668. PMCID: PMC6304815. doi: 10.1155/2018/4138560
12. Swapna K, Babu P. A Critical Study on Cluster Analysis Methods to Extract Liver Disease Patterns in Indian Liver Patient Data. *Int J Comput Intellig Res*. 2017;13(10):2379-2390
13. Qian LY, Tu JF, Ding YH, Pang J, Che XD, Zou H, et al. Association of blood pressure level with nonalcoholic fatty liver disease in nonhypertensive population: Normal is not the new normal. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(29):e4293. PMID: 27442673. PMCID: PMC5265790. doi: 10.1097/MD.0000000000004293
14. Brookes, M., Cooper, B. Hypertension and fatty liver: guilty by association? *J Hum Hypertens*. 2007;21:264-270. PMID: 17273155. doi: 10.1038/sj.jhh.1002148
15. Antipass A, Austin A, Awad S, Hughes D, Idris I. Evaluation of Liver Function Tests and Risk Score Assessment to Screen Patients for Significant Liver Disease Prior to Bariatric and Metabolic Surgery. *Obes Surg*. 2020;30:2840-2843. PMID: 32124212. PMCID: PMC7260264. doi: 10.1007/s11695-020-04486-4
16. Zou Y, Zhong L, Hu C, Sheng G. Association between the alanine aminotransferase/aspartate aminotransferase ratio and new-onset non-alcoholic fatty liver disease in a nonobese Chinese population: a population-based longitudinal study. *Lipids Health Dis*. 2020;19:245. PMID: 33239040. PMCID: PMC7690093. doi: 10.1186/s12944-020-01419-z
17. Sheng G, Xie Q, Wang R, Hu C, Zhong M, Zou Y. Waist-to-height ratio and non-alcoholic fatty liver disease in adults. *BMC Gastroenterol*. 2021;21:239. PMID: 34034671. PMCID: PMC8146664. doi: 10.1186/s12876-021-01824-3
18. Ghaemi A, Hosseini N, Osati S, Naghizadeh MM, Dehghan A, Ehrampoush E, et al. Waist circumference is a mediator of dietary pattern in Non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. 2018;8:4788. PMID: 29555959. PMCID: PMC5859081. doi: 10.1038/s41598-018-23192-x
19. Lee J, Cho YK, Kang YM, Kim HS, Jung CH, Kim HK, et al. The Impact of NAFLD and Waist Circumference Changes on Diabetes Development in Prediabetes Subjects. *Sci Rep*. 2019;9:17258. PMID: 31754157. PMCID: PMC6872574. doi: 10.1038/s41598-019-53947-z
20. Ferraioli G, Soares Monteiro LB. Ultrasound-based techniques for the diagnosis of liver steatosis. *World J Gastroenterol*. 2019;25(40):6053-6062. PMID: 31686762. PMCID: PMC6824276. doi: 10.3748/wjg.v25.i40.6053
21. Kirovski G, Schacherer D, Wobser H, Huber H, Niessen C, Beer C, et al. Prevalence of ultrasound-diagnosed non-alcoholic fatty liver disease in a hospital cohort and its association with anthropometric, biochemical and sonographic characteristics. *Int J Clin Exp Med*. 2010;3(3):202-210. PMID: 20827318. PMCID: PMC2929946. doi: 10.1055/s-0029-1246560
22. Babak O, Bashkirova A. Cluster Analysis of the Pathogenetic Relationships of Metabolic Parameters in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease on the Background of Hypertension. *World Sci*. 2019;10(50):1. doi: 10.31435/rsglobal\_ws/31102019/6717

УДК 616.36-003.826-078:616.12-008.331.1

**КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ****Рождественская А. А., Железнякова Н. М.**

**Резюме.** Целью исследования было определение возможностей кластерного анализа как метода оценки тяжести неалкогольной жировой болезни печени при условии ее коморбидности с гипертонической болезнью.

**Материал и методы.** В кластерный анализ были включены 63 пациента с неалкогольным стеатогепатитом и гипертонической болезнью, в качестве группы сравнения были обследованы 62 пациента с изолированным неалкогольным стеатогепатитом, а для контрольных результатов – 20 практически здоровых лиц. Всем пациентам был измерен объем талии, определено систолическое и диастолическое артериальное давление, проведены лабораторные исследования, иммуноферментным методом (ELISA) определены плазматические уровни каллистратина, интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и интерлейкина-10 (IL-10). Для измерения толщины правой, левой и хвостатой долей печени проведено ультразвуковое исследование органов брюшной полости, а для определения фибротических изменений печени – двумерная сдвиговолновая эластометрия с расчетом показателя жесткости печеночной паренхимы (E, кПа). Кластерный анализ проводили с помощью иерархического метода и алгоритма k-средних с предварительной стандартизацией данных.

**Результаты.** По результатам кластеризации было выделено 3 подгруппы пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и гипертонической болезнью. Кластер 1 отличался низкими показателями систолического и диастолического артериального давления, небольшим объемом талии, невысокими уровнями аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ), средним содержанием IL-1 $\beta$ , низкой активностью каллистратина и IL-10, признаками гепатомегалии и повышенной жесткостью печеночной паренхимы. К кластеру 2 были отнесены пациенты с высоким систолическим и диастолическим артериальным давлением, средним объемом талии, высокими уровнями АЛТ, АСТ и IL-1 $\beta$ , низкой активностью каллистратина и IL-10, наиболее выразительными признаками гепатомегалии на УЗИ и худшими результатами эластометрии печени. Кластер 3 отличался средним систолическим и диастолическим артериальным давлением, минимальным содержанием АЛТ, АСТ и IL-1 $\beta$ , высокими уровнями каллистратина и IL-10, минимальными признаками гепатомегалии и низкими значениями жесткости печеночной паренхимы. Кластеры достоверно отличались от группы контроля по всем признакам, от группы с изолированной неалкогольной жировой болезнью печени – по всем параметрам, кроме объема талии и IL-1 $\beta$ , а между собой варьировали не менее, чем по 4 признакам, а как максимум – по 9 индикаторам.

**Выводы.** Основными маркерами выраженного печеночного фиброза у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени и гипертонической болезнью можно считать повышенные уровни систолического и диастолического артериального давления, увеличение АЛТ и АСТ, снижение активности каллистратина и IL-10 и признаки гепатомегалии по данным УЗИ.

**Ключевые слова:** неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, гипертоническая болезнь, кластерный анализ, маркеры фиброза печени.

UDC 616.36-003.826-078:616.12-008.331.1

**Cluster Analysis as a Method of Assessing the Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Hypertension****Rozhdestvenska A. O., Zhelezniakova N. M.**

**Abstract.** The purpose of the study was to determine the possibilities of cluster analysis as a method for assessing the severity of Non-alcoholic fatty liver disease in its comorbidity with hypertension.

**Materials and methods.** In the study, we examined 63 patients with non-alcoholic steatohepatitis and hypertension, 62 patients with isolated non-alcoholic steatohepatitis and 20 healthy individuals as a control group. All patients underwent anthropometric examinations, including determination of waist circumference, measuring systolic and diastolic blood pressure, performing routine laboratory tests, revealing plasma levels of kallistatin, interleukin-1 $\beta$  and interleukin-10 by enzyme-linked immunosorbent assay. Abdominal ultrasonography was performed to determine the thickness of the right, left and caudal lobes of the liver, and 2-dimensional shear wave elastography with calculating the liver parenchyma stiffness (E, kPa) was performed to determine the fibrotic changes of the liver. Cluster analysis was performed in the program "STATISTICA 8.0." using a hierarchical method and k-means algorithm with pre-standardized data.

**Results and discussion.** According to the results of clustering, 3 subgroups of patients with non-alcoholic fatty liver disease and hypertension were identified. Cluster 1 was characterized by low systolic and diastolic

blood pressure, waist circumference, low levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, moderate interleukin-1 $\beta$  levels, low activity of kallistatin and interleukin-10, ultrasound signs of hepatomegaly and increased liver parenchyma stiffness. Cluster 2 included patients with the highest systolic and diastolic blood pressure, moderate waist circumference, highest alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and interleukin-1 $\beta$  levels, low activity of kallistatin and interleukin-10, the most pronounced ultrasound hepatomegaly signs and the worst liver elastography results. Cluster 3 was characterized by moderate systolic and diastolic blood, minimum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and interleukin-1 $\beta$  content, highest kallistatin and interleukin-10 levels, minimum thickness of liver lobes and lowest liver parenchymal stiffness. Clusters differed significantly from the control group in all parameters, and from the isolated non-alcoholic fatty liver disease group, significant differences were found in all characteristics except waist circumference and interleukin-1 $\beta$  levels. The clusters varied in at least 4 parameters, and the maximum dissimilarity was found between clusters 2 and 3, which differed by 9 indicators.

**Conclusion.** Thus, the clustering of examination results of the patients with non-alcoholic fatty liver disease and hypertension showed a statistically significant distribution of groups according to the severity of liver fibrosis. The elevated systolic and diastolic blood pressure, increased alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, decreased activity of kallistatin and interleukin-10 and signs of hepatomegaly according to ultrasound data could be considered as markers of severe liver fibrosis. The cluster distribution of patients with non-alcoholic fatty liver disease and hypertension opens prospects for the development of new integrated methods in assessment of liver parenchyma changes severity in patients with this comorbidity.

**Keywords:** non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, hypertension, cluster analysis, liver fibrosis markers.

#### ORCID and contributionship:

Anastasiia O. Rozhdestvenska : 0000-0002-9716-6538 <sup>B,C,D</sup>

Natalia M. Zhelezniakova : 0000-0002-5786-9378 <sup>A,E,F</sup>

---

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,  
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,  
E – Critical review, F – Final approval of the article

#### CORRESPONDING AUTHOR

##### Anastasiia O. Rozhdestvenska

Kharkiv national medical university,

Department of Internal Medicine No.1

4 Nauky Avenue, Kharkiv 61022, Ukraine

tel: +380974366210, e-mail: rozhdestvenska.anastasiia@gmail.com

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 10.09.2021 р.

*Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*