

## ЭКСПРЕССИЯ ЭКТОНУКЛЕОТИДАЗ CD39 И CD73 В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАЗНЫМИ ФОРМАМИ МЕТАБОЛИЧЕСКИ АССОЦИИРОВАННОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Г. А. Жулай<sup>1</sup>✉, И. В. Курбатова<sup>1</sup>, О. П. Дуданова<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Институт биологии, Карельский научный центр Российской академии наук, Петрозаводск, Россия<sup>2</sup> Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

Экспериментальные исследования показали защитную роль экспрессии эктонуклеотидаз, в частности CD39 и CD73, в ограничении воспаления при патологии печени, но их экспрессия у больных метаболически ассоциированной жировой болезнью печени (МАЖБП) мало изучена. Целью работы было оценить уровни мРНК генов *ENTPD1* и *NT5E*, кодирующих CD39 и CD73 соответственно, у пациентов с разными формами МАЖБП: стеатозом печени (СП) и метаболически ассоциированным стеатогепатитом (МАСГ), а также оценить содержание CD39- и CD73-экспрессирующих клеток при активации иммунных клеток *in vitro*. Обследовали 29 здоровых доноров и 56 пациентов с МАЖБП. Проводили оценку уровня мРНК генов *ENTPD1* и *NT5E*, уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО $\alpha$ ), уровня фрагментированного цитокератина-18 и содержания CD39<sup>+</sup> клеток в крови обследованных людей. Кроме того, оценивали влияние активации иммунных клеток на содержание CD39<sup>+</sup> и CD73<sup>+</sup>-клеток у пациентов с МАСГ и здоровых доноров *in vitro*. Установлено, что экспрессия гена *ENTPD1* ( $p = 0,007$  при сравнении с контролем;  $p = 0,010$  — с СП) и содержание CD39<sup>+</sup>-клеток в популяции моноцитов ( $p = 0,004$  — с контролем;  $p = 0,003$  — с СП) и лимфоцитов ( $p = 0,034$  — с контролем) снижены при МАСГ относительно групп контроля и СП. Показано, что активация клеток пациентов с МАСГ увеличивает уровень CD39<sup>+</sup>-лимфоцитов, но не CD14<sup>+</sup>-моноцитов, а CD73<sup>+</sup>-клеток — среди лимфоцитов и CD14<sup>+</sup>-моноцитов. Таким образом, представляется перспективным дальнейшее изучение CD39 и CD73 в механизмах прогрессирования МАЖБП.

**Ключевые слова:** метаболически ассоциированная жировая болезнь печени, метаболически ассоциированный стеатогепатит, CD39, CD73, CD14<sup>+</sup>-моноциты, CD4<sup>+</sup> Т-клетки

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 25-25-00534) на научном оборудовании ЦКП КарНЦ РАН.

**Вклад авторов:** Г. А. Жулай, И. В. Курбатова — планирование работы, сбор, обработка и анализ материала, статистическая обработка, написание текста; О. П. Дуданова — формирование клинических групп, анализ клинических данных, редактирование текста.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Министерства здравоохранения Республики Карелия и Петрозаводского государственного университета (протокол № 48 от 10 марта 2023 г.). От участников исследования получено добровольное информированное согласие и согласие на обработку данных.

✉ **Для корреспонденции:** Галина Анатольевна Жулай  
ул. Пушкинская, д. 11, г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; zhgali-111@yandex.ru

**Статья получена:** 11.11.2025 **Статья принята к печати:** 12.12.2025 **Опубликована онлайн:** 21.12.2025

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2025.079

**Авторские права:** © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## BLOOD EXPRESSION OF CD39 AND CD73 ECTONUCLEOTIDASES IN PATIENTS WITH VARIOUS FORMS OF METABOLIC-ASSOCIATED FATTY LIVER DISEASE

Zhulai GA<sup>1</sup>✉, Kurbatova IV<sup>1</sup>, Dudanova OP<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia<sup>2</sup> Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

Experimental studies have demonstrated the protective role of ectonucleotidases — particularly CD39 and CD73 — in limiting inflammation connected to a liver pathology. However, their expression in metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) has not been thoroughly investigated. This study aimed to evaluate the mRNA levels of the *ENTPD1* and *NT5E* genes, which encode CD39 and CD73, respectively, in patients with different forms of MAFLD (liver steatosis (LS) and metabolic-associated steatohepatitis (MASH)), and to assess the expression of CD39- and CD73-positive cells following immune cell activation *in vitro*. The sample included 29 healthy donors and 56 MAFLD patients. We measured the mRNA levels of the *ENTPD1* and *NT5E* genes, pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF $\alpha$ ), fragmented cytokeratin-18, and the blood content of CD39<sup>+</sup> cells. Another parameter measured *in vitro* was the effect of immune cell activation on the proportion of CD39<sup>+</sup> and CD73<sup>+</sup> cells in patients with MASH and healthy donors. The expression of the *ENTPD1* gene ( $p = 0.007$  vs. control group;  $p = 0.010$  vs. LS group) and the proportion of CD39<sup>+</sup> cells among monocytes ( $p = 0.004$  vs. control group;  $p = 0.003$  vs. LS group) and lymphocytes ( $p = 0.034$  vs. control group) were lower in the MASH group compared with both the control and LS groups. Activation of cells from MASH patients increased the proportion of CD39<sup>+</sup> lymphocytes, but not that of CD14<sup>+</sup> monocytes. It also increased the proportion of CD73<sup>+</sup> cells among both lymphocytes and CD14<sup>+</sup> monocytes. Thus, further investigation into the roles of CD39 and CD73 in the context of MAFLD progression represents a promising avenue for future research.

**Keywords:** metabolic-associated fatty liver disease, metabolic-associated steatohepatitis, CD39, CD73, CD14<sup>+</sup> monocytes, CD4<sup>+</sup> T cells

**Funding:** the work was supported by grant No. 25-25-00534 of the Russian Science Foundation and used equipment of the Collective Use Centre of Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences.

**Author contribution:** Zhulai GA, Kurbatova IV — study planning, collection, processing and analysis of material, statistical processing, article authoring; Dudanova OP — formation of clinical groups, analysis of clinical data, article editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Ministry of Health of the Republic of Karelia and Petrozavodsk State University (Minutes No. 48 of March 10, 2023). All participants signed the voluntary informed consent form and the consent form for personal data processing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Galina A. Zhulai  
Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, Russia; zhgali-111@yandex.ru

**Received:** 11.11.2025 **Accepted:** 12.12.2025 **Published online:** 21.12.2025

**DOI:** 10.24075/brsmu.2025.079

**Copyright:** © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЗБП) — хроническое неинфекционное, медленно прогрессирующее мультифакториальное заболевание, чрезвычайно распространенное в мире и в России в частности. По последним данным, распространенность МАЗБП в России и в мире составляет 29–35% среди взрослого населения [1, 2].

Согласно современным представлениям, сложный патогенез МАЗБП включает в себя формирование инсулинорезистентности, нарушение аутофагии, липотоксичность, воспаление, дисбаланс цитокинов и адипокинов, активацию иннантного иммунитета и микробиоты, воздействие экологических и генетических факторов [3, 4]. По стадиям выделяют ряд клинико-морфологических форм МАЗБП: стеатоз, метаболически ассоциированный стеатогепатит (МАСГ) (с фиброзом или без) и цирроз печени (ЦП) [3]. Стеатоз печени (СП) характеризуется доброкачественным клиническим течением, тогда как МАСГ отличается прогрессирующим течением с возможным развитием ЦП и гепатоцеллюлярной карциномы. Ранний МАСГ длительное время протекает бессимптомно, однако его многолетнее течение, несмотря на минимальные отклонения в рутинных лабораторных показателях состояния печени, приводит к развитию целого ряда коморбидных патологий (сахарный диабет 2-го типа, гипертоническая болезнь, хроническая болезнь почек и др.), которые ухудшают как трудовой прогноз пациентов, так и прогноз для жизни. Наряду с этим, механизмы прогрессирования МАЗБП остаются мало изученными [4]. Среди ключевых проблем современной гастроэнтерологии — проблема поиска альтернатив биопсии печени для дифференциации МАСГ от СП [5].

Известно, что при МАЗБП имеет место тесная взаимосвязь процессов воспаления, апоптоза и фиброза, и важную роль в интеграции этих процессов играют иммунные клетки и цитокины [6–8]. Многие авторы убедительно продемонстрировали взаимосвязь фрагментированного цитокератина-18 (ФЦК-18) с лабораторными и гистологическими признаками воспаления при МАСГ [9, 10].

Одним из перспективных направлений в ограничении воспаления в настоящее время является исследование баланса АТФ–аденозин. Внеклеточный АТФ высвобождается из клетки при некрозе, апоптозе или гипоксии, направляет фагоциты в места воспаления, приводит к активации инфламмосомы с последующим высвобождением провоспалительных цитокинов. Внеклеточный аденозин затем действует как ограничитель воспаления и тканевого повреждения, оказывая противовоспалительное действие [11]. Ключевыми ферментами в образовании внеклеточного аденозина являются эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 1 (ENTPD1, или CD39), которая расщепляет АТФ и АДФ до АМФ, и экто-5'-нуклеотидаза (NT5E, или CD73), которая из АМФ образует аденозин.

Накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что CD39 и CD73 играют важную роль в заболеваниях печени [12–14]. Показано, что делеция CD39 в экспериментальных моделях является причиной инсулинорезистентности и обострения воспаления в печени [15]. Кроме того, показана роль дефицита CD39 в повреждении желчных протоков и фиброзе посредством привлечения цитотоксических Т-клеток [16]. Недостаток аденозинового рецептора A2A, как в макрофагах, так и в гепатоцитах сопровождался усилением тяжести МАЗБП, вероятно, за счет усиления воспаления и липогенеза [17]. Дефосфорилируя АТФ до аденозина, эктонуклеотидазы CD39 и CD73 играют

защитную роль, предотвращая местное и системное воспаление. Значение этого механизма при МАЗБП не исследовано. Целью работы было оценить уровни мРНК генов *ENTPD1* и *NT5E*, кодирующих CD39 и CD73 соответственно, у больных разными формами МАЗБП (СП, МАСГ), а также оценить содержание CD39- и CD73-экспрессирующих клеток при активации иммунных клеток *in vitro*.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 56 больных МАЗБП: 31 человек с простым стеатозом печени (группа СП) и 25 человек с МАСГ умеренной и высокой активности (группа МАСГ). Контрольную группу составили 29 здоровых человек.

Критерии включения в контрольную группу: нормальный ИМТ, нормальные функциональные печеночные тесты, нормальная структура печени при сонографии и нормальная жесткость печени.

Критерии исключения из контрольной группы: наличие кардиометаболических факторов риска, установленный диагноз НАЖБП, прием лекарственных препаратов.

Критерии исключения, общие для изучаемых групп: перенесенные в последний месяц инфекционно-воспалительные заболевания, беременность и лактация, курение, употребление алкоголя.

Критерии включения пациентов в исследование: установленный диагноз НАЖБП (СП или МАСГ), наличие хотя бы одного кардиометаболического фактора риска.

Критерии исключения пациентов НАЖБП из исследования: вирусный генез поражения печени на основании отсутствия серологических маркеров HBV-, HCV-инфекции; аутоиммунный генез — на основании отсутствия аутоантител к структурам гепатоцитов; алкогольный генез — на основании анамнестических, клинических данных, данных шкал CAGE, AUDIT; лекарственный генез — на основании анамнестических данных; сахарный диабет 1-го и 2-го типов; цирроз печени; гепатотропная или иная терапия, проводимая на момент забора материала для исследования.

Здоровые доноры и пациенты МАЗБП были обследованы врачами терапевтического отделения ЧУЗ КБ «РЖД-медицина» (г. Петрозаводск). Диагноз МАЗБП с определением формы (СП, МАСГ) устанавливали на основании традиционных клинических, лабораторных, инструментальных и гистологических данных, согласно клиническим рекомендациям [3]. Все пациенты имели признаки метаболического синдрома. У всех пациентов имелся хотя бы один кардиометаболический фактор риска, чаще всего — дислипидемия (у 64% СП и 93% МАСГ) и висцеральное ожирение — у всех 100% пациентов (ИМТ (индекс массы тела) > 25 кг/м<sup>2</sup>). Пациентам выполняли ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости на аппарате Vivid Pro-7 (General Electric, США), которое выявляло усиление эхогенности ткани печени, превышающее эхогенность правой почки. Оценивали жесткость печени при эластометрии методом сдвиговой волны ARFI на аппарате Mindray DC-80 (Mindray, Китай). Ни у кого из пациентов не было признаков портальной гипертензии — отсутствовал асцит, при эзофагогастроскопии не выявлялись варикозные вены пищевода и кардиального отдела желудка. Больным выполняли слепую чрескожную биопсию печени с оценкой гистологической активности и фиброза по методу Brunt et al. [18], на основании которой верифицировали форму

МАЗБП: стеатоз ( $\geq 5\%$  гепатоцитов) без воспаления и баллонной дистрофии гепатоцитов или стеатогепатит с наличием активного повреждения в форме гепатоцеллюлярной баллонной дегенерации и долькового воспаления (в основном лимфоцитарного с некоторым количеством нейтрофилов), в дополнение к различной степени стеатоза. По результатам гистологического исследования, у всех пациентов фиброз не превышал стадию F2.

В качестве материала для исследования использовали образцы венозной крови, собранной из локтевой вены натошак в пробирки с антикоагулянтом К2ЭДТА. Клинико-лабораторная оценка печеночных функциональных проб, выделение лейкоцитов периферической крови (ЛПК) и плазмы, а также анализ содержания клеток, экспрессирующих CD39, выполняли в течение часа после забора крови. Плазму крови, тотальную РНК, выделенную из ЛПК, и полученные осаждением на градиенте плотности фикола ( $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ ; Биолот) мононуклеарные клетки (МНК) помещали в биобанк на хранение (не более 3 месяцев) при температуре  $-80^\circ\text{C}$ . Взятие материала у пациентов проводили в период госпитализации до назначения терапии, за 2–3 дня до биопсии печени и эластомерии.

Оценка печеночных функциональных проб: уровня аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), общего билирубина, щелочной фосфатазы (ЩФ), глюкозы, общего холестерина (ОХС), ЛПВП, триглицеридов, С-реактивного белка (СРБ) — проведена на анализаторе Random Access F-15 (BioSystems, Испания) с использованием реактивов фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Уровень ЛПНП рассчитывали по формуле Фридвальда. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) определяли методом Вестергрена.

Методом ИФА в плазме крови определяли концентрацию тканевого полипептид-специфического антигена (показателя апоптоза гепатоцитов ФЛК-18), фактора некроза опухоли альфа (ФНО $\alpha$ ) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) на планшетном мультимодальном ридере SuPerMax 3100 (Flash Spectrum, Китай). Использовали тест-системы «TPS ELISA» (Biotech, Швеция), «Human TNF $\alpha$  Platinum ELISA» (eBioscience, Австрия), «Интерлейкин-6 – ИФА – Бест» («Вектор-Бест», Россия).

Тотальную РНК из ЛПК выделяли с помощью реагента ExtractRNA («Евроген», Россия). Относительный уровень транскриптов генов *ENTPD1* и *NT5E* в ЛПК оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени на приборе Light Cycler (Roche, Германия) с использованием набора qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Праймеры для амплификации гена *ENTPD1* — прямой 5'-AGCAGCTGAAATATGCTGGC-3', обратный 5'-GAGACAGTATCTGCCGAAGTCC-3'; для гена *NT5E* — прямой 5'-ATTGCAAAGTGGTTCAAAGTCA-3', обратный 5'-ACACTTGGCCAGTAAAATAGGG-3'. В качестве референсного использовали ген *18S rRNA* праймеры к которому — прямой 5'-AGAAACGGCTACCACATCCA-3', обратный 5'-CACCAGACTTGCCCTCCA-3'. Условия проведения ПЦР были следующие: денатурация кДНК 5 мин  $95^\circ\text{C}$ ; 40 циклов: денатурация при  $95^\circ\text{C}$  30 с, отжиг при температуре  $64^\circ\text{C}$  30 с, элонгация при  $72^\circ\text{C}$  30 с. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР-фрагментов. Повторность при ПЦР-анализе — трехкратная. Относительный уровень транскриптов оценивали по Livak and Schmittgen [19].

Оценку относительного содержания клеток исследуемых популяций проводили на проточном цитометре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США). Образцы крови или клеточную суспензию окрашивали FITC-, PE-, PerCP-,

PE-Cy7-меченными моноклональными антителами против CD39, CD4, CD25, CD161 и CD14 антигенов, а также соответствующими изотипическими контролями (Sony Biotechnology, США и eBioscience, США). Эритроциты были лизированы реагентом FACS Lysing Solution (BD Biosciences, США). Для определения CD39- и CD73-экспрессирующих клеток был использован контроль FMO (fluorochrome minus one). Абсолютное количество клеток определяли исходя из данных клинического анализа крови.

Для оценки влияния активации на содержание CD39 $^{+}$ - и CD73 $^{+}$ -клеток выделенные МНК больных МАСГ ( $n = 6$ ) и здоровых доноров ( $n = 6$ ) высаживали в 48-луночные планшеты ( $3-5 \times 10^5$  клеток на лунку) в среде RPMI-1640 (Servicebio), дополненной 10% термоинактивированной ЭТС, Биолот), L-глутамином (2 мМ), пенициллином (100 ЕД/мл) и стрептомицином (100 мг/мл) (Servicebio) при  $37^\circ\text{C}$  в 5%  $\text{CO}_2$  в течение 24 ч. Клетки активировали классическими стимуляторами: для лимфоцитов использовали ФГА в конечной концентрации 10 мкг/мл (Биолот), для моноцитов — ЛПС (Пирогенал, МЕДГАМАЛ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи) в концентрации 1 мкг/мл.

Статистический анализ проводили с использованием программы GraphPad Prism v.8. (GraphPad Software Inc.; San Diego, CA, США). Данные на графиках представлены в виде Me ( $Q_1-Q_3$ ). Значения  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимые. В связи с несоответствием распределений показателей в группах нормальному (согласно критерию *W* Шапиро–Уилка), использовали непараметрические критерии для анализа. При сравнении изучаемых показателей в группах использовали критерий *H* Краскела–Уоллиса с последующим парным сравнением групп с помощью критерия *U* Манна–Уитни. Парное сравнение связанных показателей выполнили с использованием Т-критерия Уилкоксона. Взаимосвязь показателей оценивали с помощью расчета рангового коэффициента корреляции Спирмена (*r*). Для оценки силы связи между двумя величинами использовали шкалу Чеддока.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-лабораторная характеристика пациентов СП, МАСГ и здоровых людей представлена в табл. 1. У пациентов МАСГ по сравнению с СП повышен уровень активности аминотрансфераз в крови, клинических маркеров воспаления (СРБ, СОЭ), ЛПНП, а также концентрация ФЛК-18 (табл. 1, 2). Уровень основных провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ-6) в плазме крови пациентов МАЗБП выше, чем у здоровых людей, при этом нет различий между формами заболевания (табл. 2).

Проведен сравнительный анализ уровней мРНК гена *ENTPD1*, кодирующего эктонуклеотидазу CD39, и гена *NT5E*, кодирующего фермент CD73, в ЛПК пациентов МАЗБП и здоровых доноров. По результатам дисперсионного анализа Краскела–Уоллиса, группы исследования статистически значимо различаются по уровню мРНК гена *ENTPD1* ( $H = 8,830$ ,  $p = 0,012$ ), но не по уровню мРНК гена *NT5E* ( $H = 0,618$ ,  $p = 0,734$ ) (рис. 1). Показано, что уровень экспрессии гена *ENTPD1* у пациентов МАСГ ниже, чем у здоровых людей и пациентов с СП. При этом при СП уровень мРНК гена *ENTPD1* не отличается от контроля (рис. 1А).

Поскольку достоверные различия между группами исследования выявлены в отношении экспрессии гена *ENTPD1*, далее мы провели корреляционный анализ уровня мРНК гена *ENTPD1* у пациентов с МАЗБП и здоровых

Таблица 1. Клиническая и лабораторная характеристика групп исследования

Показатель	Контроль (n = 29)	СП (n = 31)	МАСГ (n = 25)
Возраст, годы	43,72 ± 1,12 (44,81)	48,43 ± 1,63 (48,10)	46,29 ± 2,27 (47,50)
Мужчины/женщины (n)	14/15	15/16	12/13
АлАТ, Ед./л	16,04 ± 1,25 (14,76)	23,16 ± 1,74 (21,90)	116,80 ± 27,67 (84,85)*#
АсАТ, Ед./л	20,60 ± 0,86 (20,35)	23,92 ± 0,90 (23,90)	75,01 ± 8,48 (65,95)*#
Билирубин общий, мкмоль/л	15,14 ± 2,20 (12,20)	15,40 ± 1,38 (13,30)	16,85 ± 2,23 (15,92)*
ЩФ, Ед./л	96,37 ± 11,12 (83,20)	141,24 ± 16,17 (143,21)*	173,21 ± 16,54 (165,43)*
СРБ, мг/л	1,06 ± 0,17 (0,95)	1,18 ± 0,40 (1,25)	4,87 ± 0,11 (4,87)*#
СОЭ, мм/ч	8,65 ± 1,94 (6,00)	10,87 ± 2,06 (7,00)	17,38 ± 4,77 (12,00)*#
Глюкоза, ммоль/л	5,12 ± 0,07 (5,02)	5,20 ± 0,10 (5,20)	5,31 ± 0,11 (5,28)
ОХС, ммоль/л	5,04 ± 0,16 (4,96)	5,09 ± 0,19 (5,03)	5,56 ± 0,22 (5,60)*
ЛПВП, ммоль/л	1,40 ± 0,06 (1,30)	1,36 ± 0,13 (1,11)	1,22 ± 0,12 (1,03)
ЛПНП, ммоль/л	3,01 ± 0,18 (2,56)	2,74 ± 0,15 (2,68)	3,81 ± 0,24 (3,80)*#
Триглицериды, ммоль/л	1,22 ± 0,12 (1,09)	1,81 ± 0,19 (1,55)	1,91 ± 0,14 (1,94)*
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	23,88 ± 1,10 (23,77)	33,81 ± 0,78 (33,10)*	34,40 ± 1,13 (34,25)*
Лимфоциты, %	33,33 ± 0,99 (33,00)	31,36 ± 1,34 (31,00)	32,09 ± 1,1 (31,07)
Лимфоциты, ×10 <sup>9</sup> /л	2,11 ± 0,10 (2,23)	2,09 ± 0,12 (1,92)	1,91 ± 2,17 (0,14)
Моноциты, %	7,06 ± 0,35 (6,80)	7,63 ± 0,44 (7,35)	7,68 ± 0,46 (7,55)
Моноциты, ×10 <sup>9</sup> /л	0,44 ± 0,03 (0,41)	0,51 ± 0,03 (0,46)	0,50 ± 0,01 (0,45)

**Примечание:** данные представлены как  $M \pm m$ , в скобках — медиана; \* — достоверное отличие от группы контроля, # — достоверное отличие от группы СП (U-критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони).

доноров с комплексом биохимических показателей крови (помимо рутинных клинических показателей, с концентрацией ФЦК-18 и провоспалительных цитокинов, ФНОα и IL-6 (табл. 1 и 2)). Установлена умеренная положительная взаимосвязь относительного уровня мРНК гена *ENTPD1* с уровнем ЛПНП в крови пациентов СП ( $r = 0,379$ ,  $p = 0,039$ ).

Обследованные нами группы МАЖБП не отличались по содержанию лимфоцитов и моноцитов в крови от контроля (табл. 1). Однако в связи с полученными данными (рис. 1) следующей задачей было оценить содержание эктонуклеотидазы CD39 на ЛПК при МАЖБП. Известно, что CD39 содержится на поверхности многих иммунных клеток [20]. В работе анализировали частоту встречаемости CD39<sup>+</sup>-клеток для гранулоцитов, моноцитов и лимфоцитов. Среди лимфоцитов исследовали количество CD39<sup>+</sup>-клеток в целом в популяции CD4<sup>+</sup>-Т-хелперов и на их отдельных субпопуляциях — иммуносупрессорных Трег-клетках (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>) и провоспалительных Th17 (CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>). Данные представлены в табл. 3 и на рис. 2.

Показано, что в группе МАСГ достоверно снижено относительное содержание CD39<sup>+</sup>-моноцитов по сравнению с контролем и с группой СП (табл. 3, рис. 2). Гранулоциты, как у больных, так и у здоровых доноров, практически все были CD39-положительными (табл. 3). У больных МАСГ также наблюдали пониженное относительное и абсолютное содержание CD39<sup>+</sup>-лимфоцитов по сравнению с контролем

(табл. 3). Отмечено, что содержание CD39<sup>+</sup> Трег-клеток было выше в группе МАСГ по сравнению со здоровыми донорами (рис. 2). Примечательно, что количество самих Трег-клеток у больных СП ( $p = 0,007$ ) и МАСГ ( $p = 0,013$ ) было ниже, чем в контроле.

Чтобы выяснить, связана ли экспрессия эктонуклеотидазы CD39 и CD73 на моноцитах и лимфоцитах у больных МАСГ с активацией, клетки больных МАСГ и здоровых доноров (контроль) были стимулированы и проанализированы через 24 ч на проточном цитометре. Определяли содержание CD39- и CD73-положительных клеток в гейтах лимфоцитов, CD4<sup>+</sup>-Т-клеток и CD14<sup>+</sup>-моноцитах. Кроме того, определяли медиану интенсивности флуоресценции (MFI) для CD39 и CD73, которая отражает плотность экспрессии антигенов на клетках. Результаты представлены на рис. 3.

Известно, что в норме при активации лимфоцитов, в особенности Т-клеток, ферментативная активность CD39 и количество CD39<sup>+</sup>-клеток увеличивается [21]. В работе мы наблюдали повышение числа CD39<sup>+</sup>-клеток в культуре лимфоцитов, в частности среди CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, с добавлением митогена в контроле и при МАСГ (рис. 3А). Изменения в CD39 MFI были отмечены только в гейте лимфоцитов, как в контроле, так и при МАСГ (рис. 3В). Отмечено, что на содержание CD14<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>-моноцитов присутствие ЛПС не оказывало влияния (рис. 3А).

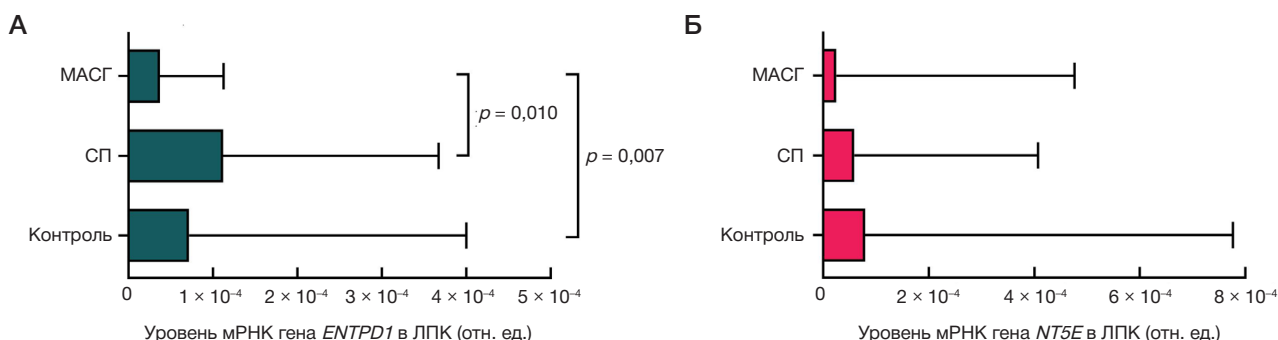
При анализе числа CD73<sup>+</sup>-клеток при активации МНК пациентов с МАСГ и здоровых доноров (рис. 3Б) выявлены

Таблица 2. Содержание цитокинов и уровень ФЦК-18 в плазме крови пациентов МАЖБП и у здоровых доноров

Показатель	Контроль (n = 29)	СП (n = 31)	МАСГ (n = 25)
ФЦК-18, Ед/л	80,36 ± 10,06 (83,80)	130,60 ± 13,83 (129,00)*	423,90 ± 84,60 (269,70)*#
ФНОα, пг/мл	4,01 ± 0,35 (3,58)	5,86 ± 0,33 (5,89)*	6,50 ± 0,35 (6,67)*
ИЛ-6, пг/мл	1,79 ± 0,18 (1,75)	5,31 ± 0,88 (4,25)*	6,89 ± 1,28 (6,71)*

**Примечание:** данные представлены как  $M \pm m$ , в скобках — медиана; \* — достоверное отличие от группы контроля, # — достоверное отличие от группы СП (U-критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони).





**Рис. 1.** Уровень мРНК гена *ENTPD1* (А) и гена *NT5E* (Б) в ЛПК больных МАЖБП и здоровых доноров. Представлены *Me* и межквартильный размах. Достоверные различия по *U*-критерию Манна–Уитни с поправкой Бонферрони

достоверные различия в содержании CD73<sup>+</sup>-клеток при активации лимфоцитов и CD14<sup>+</sup>-моноцитов пациентов с МАЖБП: после добавления стимулятора количество несущих на своей поверхности CD73-клеток увеличивалось (рис. 3Б), в отличие от здоровых доноров, у которых достоверные изменения в числе CD73<sup>+</sup>-клеток были отмечены только для CD4<sup>+</sup>-Т-клеток. Повышение CD73 MFI наблюдали после активации в гейте лимфоцитов (рис. 3Г) у здоровых и у пациентов с МАЖБП.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В основе прогрессирования печеночно-клеточной недостаточности при МАЖБП лежат иммуновоспалительные процессы, важнейшая роль в реализации которых принадлежит лейкоцитам [6, 8]. Известно, что в периферической крови эктонуклеотидазы CD39 и CD73 содержатся на поверхности разных иммунных клеток. Кроме того, экспрессия фермента может быть индуцирована воздействием окислительного стресса и гипоксии, а также провоспалительными цитокинами [22]. Уровень эктонуклеотидаз, определенный в основном посредством экспериментальных моделей, описан при некоторых острых и хронических патологиях печени [22]. Однако экспрессия CD39 и CD73 в крови больных МАЖБП и на отдельных популяциях иммунных клеток не была исследована. В связи с этим, нами проведена сравнительная оценка экспрессии эктонуклеотидаз на уровне мРНК и на поверхности ЛПК пациентов с разными формами МАЖБП (СП, МАЖБП).

Показано, что на стадии простого СП уровень мРНК гена *ENTPD1* и содержание данного фермента на поверхности ЛПК находятся на уровне контроля. При МАЖБП экспрессия CD39, как на уровне мРНК в ЛПК, так и на уровне белка на поверхности моноцитов, достоверно ниже, чем при СП и контроле (рис. 1, рис. 2, табл. 3). Кроме

того, в работе установлено, что изменение числа CD39<sup>+</sup>-клеток происходит среди моноцитов, а также Трег-клеток пациентов с МАЖБП. Отмечено, что число CD39<sup>+</sup>-клеток среди Трег-клеток пациентов с МАЖБП было выше, чем в контроле, однако содержание самих Трег-клеток у этих пациентов было снижено. Вероятно, усиление экспрессии CD39 на поверхности этих клеток связано с компенсацией их низкого количества, поскольку генерация внеклеточного аденозина, посредством продукции CD39, является одним из основных механизмов Трег-ассоциированной иммуносупрессии [20]. И их количества в крови больных МАЖБП недостаточно, чтобы повлиять на функционирование провоспалительных клеток.

Кроме того, в работе показано, что уровень CD14<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>-моноцитов у пациентов с МАЖБП не восстанавливается до уровня CD14<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>-моноцитов здоровых доноров при активации клеток *in vitro* (рис. 3). В литературе отмечается, что низкая экспрессия CD39 на моноцитах может иметь неблагоприятное значение. Так, пониженное содержание CD39<sup>+</sup>-моноцитов описывается как потенциальный диагностический биомаркер и предиктор неблагоприятного прогноза у пациентов с сепсисом [23].

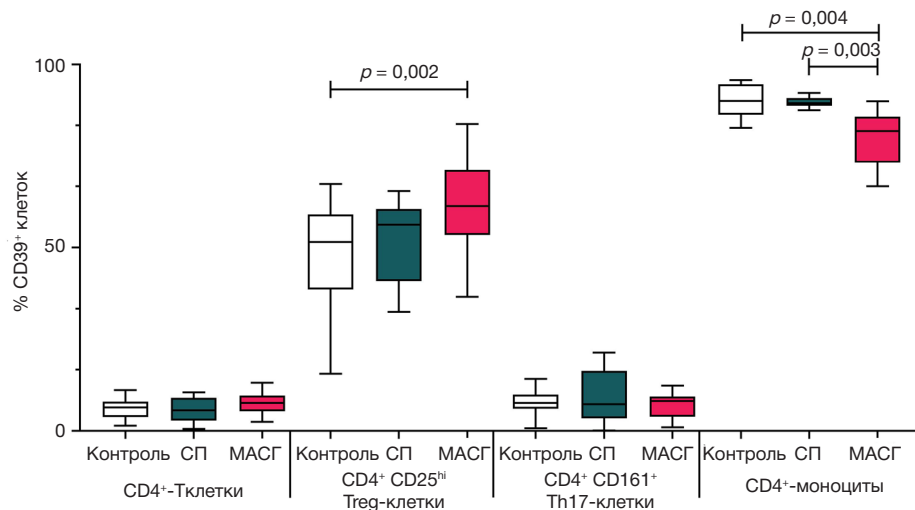
Снижение экспрессии CD39 при МАЖБП может приводить к снижению внеклеточной деградации АТФ и АДФ и, как следствие, к снижению уровня противовоспалительного аденозина, что может способствовать прогрессированию воспаления и инсулинорезистентности. Это предположение подтверждается данными о патологическом влиянии дефицита *ENTPD1*/CD39 на данные процессы при повреждении печени [15, 16].

При изучении активности CD39 в тромбоцитах пациентов с гиперхолестеринемией [21] было показано, что гиперхолестеринемия (в том числе повышение уровня ЛПНП) связана с усилением воспалительной реакции, окислительного стресса и гидролиза АТФ и АДФ. Увеличение активности CD39 авторы объяснили компенсаторным

**Таблица 3.** Относительное и абсолютное содержание CD39-экспрессирующих клеток в популяциях клеток крови больных МАЖБП и здоровых доноров

	Контроль	СП	МАЖБП
Лимфоциты CD39 <sup>+</sup> -клетки, % CD39 <sup>+</sup> -клетки, x10 <sup>9</sup> /л	12,40 (11,05–14,78) 0,33 (0,26–0,42)	11,25 (9,84–12,59) 0,24 (0,18–0,30)	10,65 (9,85–12,10)* 0,20 (0,19–0,30)*
Моноциты CD39 <sup>+</sup> -клетки, % CD39 <sup>+</sup> -клетки, x10 <sup>9</sup> /л	80,17 (70,98–88,41) 0,37 (0,31–0,49)	76,95 (68,88–81,54) 0,35 (0,28–0,40)	61,46 (53,64–71,94)*# 0,33 (0,24–0,41)
Гранулоциты CD39 <sup>+</sup> -клетки, %	94,65 (90,68–97,14)	95,65 (92,49–97,90)	94,65 (90,68–94,65)

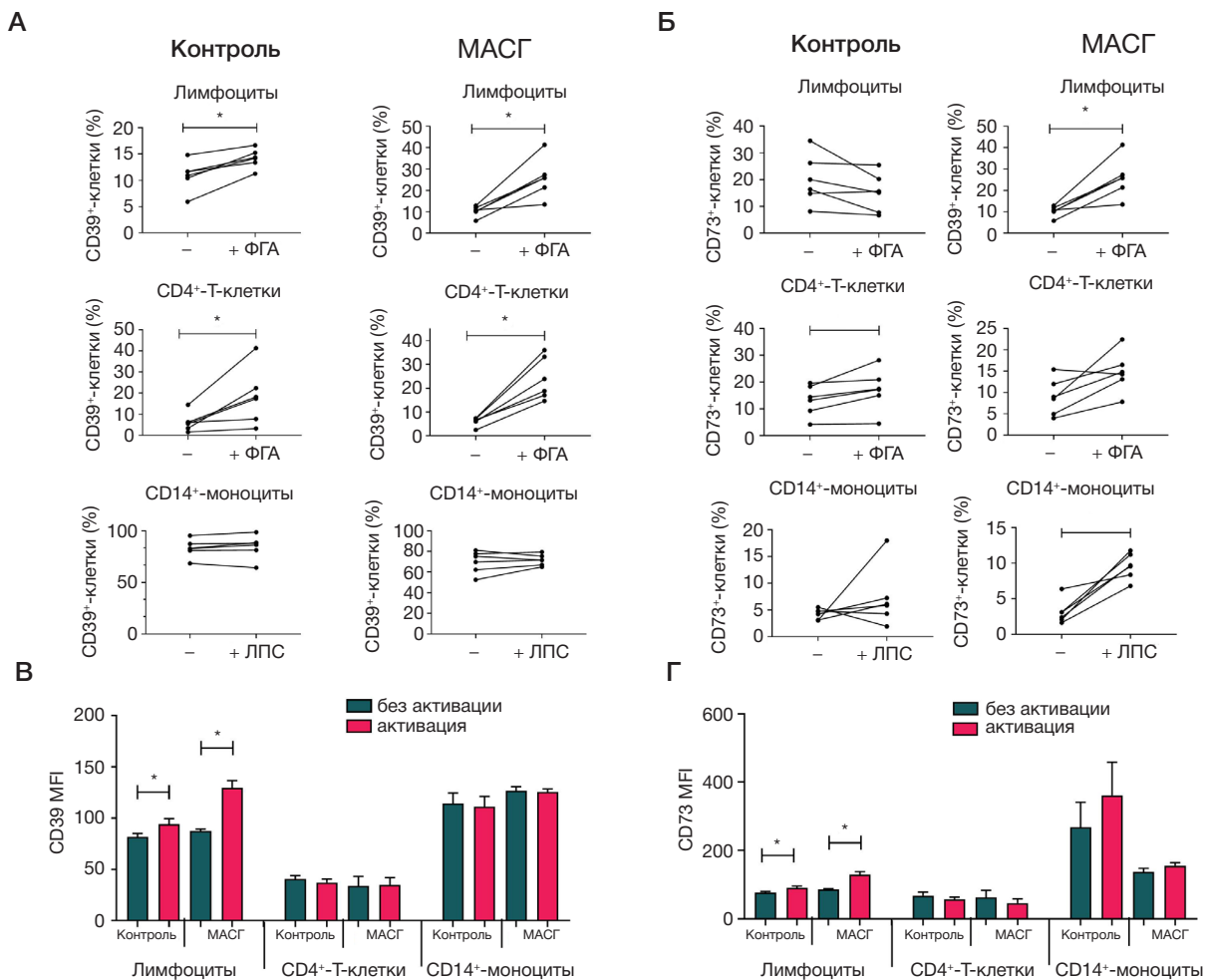
**Примечание:** данные представлены в виде *Me* (*Q*<sub>1</sub>–*Q*<sub>3</sub>). \* — достоверное отличие от группы контроля, # — достоверное отличие от группы СП (*U*-критерий Манна–Уитни). Выделение популяций клеток на основе прямого (FS) и бокового (SS) светорассеяния.



**Рис. 2.** Относительное содержание CD39-экспрессирующих клеток в популяциях клеток крови больных МАЖБП и здоровых доноров. Представлены Ме, межквартильный размах, минимальное и максимальное значения

ответом на воспалительное и проокислительное состояние, связанное с гиперхолестеринемией [24]. Интересно, что на ранней стадии МАЖБП — СП в условиях накопления липидов гепатоцитами и низкого уровня субклинического воспаления нами не зарегистрировано снижение экспрессии CD39 в периферической крови по сравнению с контролем, при этом установлена умеренная положительная корреляция

уровня мРНК гена *ENTPD1* с уровнем ЛПНП. Ранее были получены доказательства связи холестеринового обмена и активности CD39. *In vitro* было показано, что снижение уровня холестерина в мембране клеток приводит к ингибированию ферментативной и антиагрегантной активности CD39, а обработка мембран холестерином полностью восстанавливает функцию фермента [25].



**Рис. 3.** Изменение содержания клеток, экспрессирующих эктонуклеотидазы CD39 и CD73, после активации у здоровых доноров ( $n = 6$ ) и больных МАЖБП ( $n = 6$ ). **А.** Содержание CD39<sup>+</sup>-клеток, % от исследуемой популяции. **Б.** Содержание CD73<sup>+</sup>-клеток, % от исследуемой популяции. **В.** MFI (средняя интенсивность флуоресценции) CD39 на клетках с активацией и без. **Г.** MFI CD73 на клетках с активацией и без. Данные представлены как  $M \pm SE$ , \* — достоверные отличия от неактивированных клеток (Т-критерий Уилкоксона)

Однако, в отличие от пациентов с СП, у пациентов с МАСГ при выраженном воспалении и изменении липидного статуса корреляция уровня мРНК гена *ENTPD1* с концентрацией липидов крови не обнаружена, но выявлено снижение экспрессии CD39 в периферической крови относительно контроля и СП. Вероятно, при МАСГ-прогрессирующее воспаление приводит к нарушению компенсаторных механизмов, поддерживающих дефосфорилирование АТФ до аденозина при повреждении печени. Изменения в экспрессии эктонуклеотидазы CD39 могут быть обнаружены и для других популяций иммунных клеток, так в данной работе не рассматривались В-клетки, которые преимущественно экспрессируют CD39 среди лимфоцитов, а также NK-клетки и CD8<sup>+</sup>-Т-клетки.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, у пациентов с МАСГ показатели воспаления (СОЭ, СРБ, уровень IL-6 и ФНОα) выше по сравнению со здоровыми донорами. Наряду с этим в работе показано, что при МАСГ экспрессия эктонуклеотидазы CD39 снижена как на уровне мРНК в ЛПК, так и на уровне фермента на поверхности моноцитов и лимфоцитов. Недостаток фермента на поверхности иммунных клеток может приводить к накоплению внеклеточного АТФ и поддерживать тем самым процесс воспаления. В связи с полученными данными представляется перспективным дальнейшее изучение эктонуклеотидазы CD39 в качестве диагностического и прогностического маркера при МАЖБП.

## Литература

1. Younossi ZM, Golabi P, Paik JM, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. *Hepatology*. 2023; 77 (4): 1335–47. DOI: 10.1097/HEP.0000000000000004.
2. Маев И. В., Андреев Д. Н., Кучерявый Ю. А. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени в России: мета-анализ. *Consilium Medicum*. 2023; 25 (5): 313–9. DOI: 10.26442/20751753.2023.5.202155.
3. Ивашкин В. Т., Драпкина О. М., Маевская М. В., Райхельсон К. Л., Оковитый С. В., Жаркова М. С. и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества профилактики неинфекционных заболеваний, Российской ассоциации эндокринологов, Российского научного медицинского общества терапевтов, Национального общества профилактической кардиологии, Российской ассоциации геронтологов и гериатров по неалкогольной жировой болезни печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2025; 35 (1): 94–152. DOI: 10.22416/1382-4376-2025-35-1-94-152.
4. Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*. 2021; 184 (10): 2537–64. DOI: 10.1016/j.cell.2021.04.015.
5. Di Mauro S, Scamporrino A, Filippello A, Di Pino A, Scicali R, Malaguarnera R, et al. Clinical and molecular biomarkers for diagnosis and staging of NAFLD. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (21): 11905. DOI: 10.3390/ijms222111905.
6. Peiseler M, Schwabe R, Hampe J, Kubes P, Heikenwälder M, Tacke F. Immune mechanisms linking metabolic injury to inflammation and fibrosis in fatty liver disease — novel insights into cellular communication circuits. *J Hepatol*. 2022; 77 (4): 1136–60. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.06.012.
7. Kurbatova IV, Topchieva LV, Dudanova OP, Shipovskaya AA. The role of the soluble interleukin-6 receptor in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Bull Exp Biol Med*. 2023; 174 (5): 628–33. DOI: 10.1007/s10517-023-05759-5.
8. Topchieva LV, Kurbatova IV, Dudanova OP, Vasileva AV, Zhulai GA. Immune cell balance as potential biomarker of progressing non-alcoholic fatty liver disease. *Genes & Cells*. 2024; 19 (1): 105–25. DOI: 10.17816/gc610252.
9. Shipovskaya AA, Dudanova OP, Kurbatova IV. Inflammatory cytokines, soluble interleukin-6 receptors, and fragmented cytokeratin-18 as indicators of non-alcoholic steatohepatitis. *Ter Arkh*. 2025; 97 (2): 115–20. DOI: 10.26442/00403660.2025.02.203123.
10. Eguchi A, Iwasa M, Yamada M, Tamai Y, Shigefuku R, Hasegawa H, et al. A new detection system for serum fragmented cytokeratin 18 as biomarker reflecting histological activities of human nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Commun*. 2022; 6 (8): 1987–99. DOI: 10.1002/hep4.1971.
11. Pasquini S, Contri C, Borea PA, Vincenzi F, Varani K. Adenosine and Inflammation: Here, There and Everywhere. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 7685. DOI: 10.3390/ijms22147685.
12. Jain S, Jacobson KA. Purinergic signaling in liver pathophysiology. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 718429. DOI: 10.3389/fendo.2021.718429.
13. Snider NT, Griggs NW, Singla A, Moons DS, Weerasinghe SV, Lok AS, et al. CD73 (ecto-5'-nucleotidase) hepatocyte levels differ across mouse strains and contribute to mallyory-denk body formation. *Hepatology*. 2013; 58 (5): 1790–800. DOI: 10.1002/hep.26525.
14. Wang S, Gao S, Zhou D, Qian X, Luan J, Lv X. The role of the CD39-CD73-adenosine pathway in liver disease. *J Cell Physiol*. 2021; 236 (2): 851–62. DOI: 10.1002/jcp.29932.
15. Sun X, Imai M, Nowak-Machen M, Guckelberger O, Enjoji K, Wu Y, et al. Liver damage and systemic inflammatory responses are exacerbated by the genetic deletion of CD39 in total hepatic ischemia. *Purinergic Signal*. 2011; 7 (4): 427–34. DOI: 10.1007/s11302-011-9239-6.
16. Peng ZW, Rothweiler S, Wei G, Ikenaga N, Liu SB, Sverdlow DY, et al. The ectonucleotidase ENTPD1/CD39 limits biliary injury and fibrosis in mouse models of sclerosing cholangitis. *Hepatol Commun*. 2017; 1 (9): 957–72. DOI: 10.1002/hep4.1084.
17. Cai Y, Li H, Liu M, Qian X, Luan J, Lv X. Disruption of adenosine 2A receptor exacerbates NAFLD through increasing inflammatory responses and SREBP1c activity. *Hepatology*. 2018; 68 (1): 48–61. DOI: 10.1002/jcp.29932.
18. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94 (9): 2467–74. DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x.
19. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. *Methods*. 2001. 25 (4): 402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
20. Timperi E, Barnaba V. CD39 Regulation and Functions in T Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22 (15): 8068. DOI: 10.3390/ijms22158068.
21. Pulte ED, Broekman MJ, Olson KE, Drosopoulos JH, Kizer JR, Islam N, et al. CD39/NTPDase-1 activity and expression in normal leukocytes. *Thrombosis research*. 2007; 121 (3): 309–17. DOI: 10.1016/j.thromres.2007.04.008.
22. Vuerich M, Robson SC, Longhi MS. Ectonucleotidases in intestinal and hepatic inflammation. *Front Immunol*. 2019; 10: 507. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00507.
23. Li H, Ding P, Nan Y, Wu Z, Hua N, Luo L, et al. Low expression of CD39 on monocytes predicts poor survival in sepsis patients. *J intensive care*. 2025; 13: 12. DOI: 10.1186/s40560-025-00784-0.
24. Duarte MM, Loro VL, Rocha JB, Leal DB, Bem AF, Dorneles A, et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides of patients with hypercholesterolemia and inflammatory processes. *FEBS J*. 2007; 274 (11): 2707–14. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.05805.x.
25. Papanikolaou A, Papafotika A, Murphy C, Papamarcaki T, Tsolas O, Drab M, et al. Cholesterol-dependent lipid assemblies regulate the activity of the ecto-nucleotidase CD39. *J Biol Chem*. 2005; 280 (28): 26406–14. DOI: 10.1074/jbc.M41392720014.

## References

1. Younossi ZM, Golabi P, Paik JM, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. *Hepatology*. 2023; 77 (4): 1335–47. DOI: 10.1097/HEP.0000000000000004.
2. Maev IV, Andreev DN, Kucheryavij Yu A. Rasprostranennost' nealkogol'noj zhirovoj bolezni pecheni v Rossii: meta-analiz. *Consilium Medicum*. 2023; 25 (5): 313–9. DOI: 10.26442/20751753.2023.5.202155. Russian.
3. Ivashkin VT, Drapkina OM, Maevskaya MV, Rajhelson KL, Okovityj SV, Zharkova MS, i dr. Klinicheskie rekomendacii Rossijskogo obshchestva po izucheniyu pecheni, Rossijskoj gastroenterologicheskoy associacii, Rossijskogo obshchestva profilaktiki neinfekcionnyh zabozevanij, Rossijskoj associacii endokrinologov, Rossijskogo nauchnogo medicinskogo obshchestva terapevtov, Nacional'nogo obshchestva profilakticheskoy kardiologii, Rossijskoj associacii gerontologov i geriatrov po nealkogol'noj zhirovoj bolezni pecheni. *Rossijskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2025; 35 (1): 94–152. DOI: 10.22416/1382-4376-2025-35-1-94-152. Russian.
4. Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*. 2021; 184 (10): 2537–64. DOI: 10.1016/j.cell.2021.04.015.
5. Di Mauro S, Scamporrino A, Filippello A, Di Pino A, Scicali R, Malaguarnera R, et al. Clinical and molecular biomarkers for diagnosis and staging of NAFLD. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (21): 11905. DOI: 10.3390/ijms222111905.
6. Peiseler M, Schwabe R, Hampe J, Kubes P, Heikenwälder M, Tacke F. Immune mechanisms linking metabolic injury to inflammation and fibrosis in fatty liver disease — novel insights into cellular communication circuits. *J Hepatol*. 2022; 77 (4): 1136–60. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.06.012.
7. Kurbatova IV, Topchieva LV, Dudanova OP, Shipovskaya AA. The role of the soluble interleukin-6 receptor in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Bull Exp Biol Med*. 2023; 174 (5): 628–33. DOI: 10.1007/s10517-023-05759-5.
8. Topchieva LV, Kurbatova IV, Dudanova OP, Vasileva AV, Zhulai GA. Immune cell balance as potential biomarker of progressing non-alcoholic fatty liver disease. *Genes & Cells*. 2024; 19 (1): 105–25. DOI: 10.17816/gc610252.
9. Shipovskaya AA, Dudanova OP, Kurbatova IV. Inflammatory cytokines, soluble interleukin-6 receptors, and fragmented cytokeratin-18 as indicators of non-alcoholic steatohepatitis. *Ter Arkh*. 2025; 97 (2): 115–20. DOI: 10.26442/00403660.2025.02.203123.
10. Eguchi A, Iwasa M, Yamada M, Tamai Y, Shigefuku R, Hasegawa H, et al. A new detection system for serum fragmented cytokeratin 18 as biomarker reflecting histological activities of human nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Commun*. 2022; 6 (8): 1987–99. DOI: 10.1002/hep4.1971.
11. Pasquini S, Contri C, Borea PA, Vincenzi F, Varani K. Adenosine and Inflammation: Here, There and Everywhere. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 7685. DOI: 10.3390/ijms22147685.
12. Jain S, Jacobson KA. Purinergic signaling in liver pathophysiology. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 718429. DOI: 10.3389/fendo.2021.718429.
13. Snider NT, Griggs NW, Singla A, Moons DS, Weerasinghe SV, Lok AS, et al. CD73 (ecto-5'-nucleotidase) hepatocyte levels differ across mouse strains and contribute to mallory-denk body formation. *Hepatology*. 2013; 58 (5): 1790–800. DOI: 10.1002/hep.26525.
14. Wang S, Gao S, Zhou D, Qian X, Luan J, Lv X. The role of the CD39-CD73-adenosine pathway in liver disease. *J Cell Physiol*. 2021; 236 (2): 851–62. DOI: 10.1002/jcp.29932.
15. Sun X, Imai M, Nowak-Machen M, Guckelberger O, Enjoji K, Wu Y, et al. Liver damage and systemic inflammatory responses are exacerbated by the genetic deletion of CD39 in total hepatic ischemia. *Purinergic Signal*. 2011; 7 (4): 427–34. DOI: 10.1007/s11302-011-9239-6.
16. Peng ZW, Rothweiler S, Wei G, Ikenaga N, Liu SB, Sverdlow DY, et al. The ectonucleotidase ENTPD1/CD39 limits biliary injury and fibrosis in mouse models of sclerosing cholangitis. *Hepatol Commun*. 2017; 1 (9): 957–72. DOI: 10.1002/hep4.1084.
17. Cai Y, Li H, Liu M, Qian X, Luan J, Lv X. Disruption of adenosine 2A receptor exacerbates NAFLD through increasing inflammatory responses and SREBP1c activity. *Hepatology*. 2018; 68 (1): 48–61. DOI: 10.1002/jcp.29932.
18. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94 (9): 2467–74. DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x.
19. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 2001. 25 (4): 402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
20. Timperi E, Barnaba V. CD39 Regulation and Functions in T Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22 (15): 8068. DOI: 10.3390/ijms22158068.
21. Pulte ED, Broekman MJ, Olson KE, Drosopoulos JH, Kizer JR, Islam N, et al. CD39/NTPDase-1 activity and expression in normal leukocytes. *Thrombosis research*. 2007; 121 (3): 309–17. DOI: 10.1016/j.thromres.2007.04.008.
22. Vuerich M, Robson SC, Longhi MS. Ectonucleotidases in intestinal and hepatic inflammation. *Front Immunol*. 2019; 10: 507. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00507.
23. Li H, Ding P, Nan Y, Wu Z, Hua N, Luo L, et al. Low expression of CD39 on monocytes predicts poor survival in sepsis patients. *J intensive care*. 2025; 13: 12. DOI: 10.1186/s40560-025-00784-0.
24. Duarte MM, Loro VL, Rocha JB, Leal DB, Bem AF, Dorneles A, et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides of patients with hypercholesterolemia and inflammatory processes. *FEBS J*. 2007; 274 (11): 2707–14. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.05805.x.
25. Papanikolaou A, Papafotika A, Murphy C, Papamarcaki T, Tsolas O, Drab M, et al. Cholesterol-dependent lipid assemblies regulate the activity of the ecto-nucleotidase CD39. *J Biol Chem*. 2005; 280 (28): 26406–14. DOI: 10.1074/jbc.M41392720014.