

<https://doi.org/10.29296/25877305-2020-06-03>

Возрастная патология печени: молекулярные маркеры и перспективные гепатопротекторы

И.Е. Мещерякова¹,

А.Р. Ильина^{1,2},

Н.С. Линькова^{1,3}, доктор биологических наук,

М.В. Королева³, кандидат медицинских наук,

В.Х. Хавинсон^{1,4}, член-корреспондент РАН, профессор

¹Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии

²Институт биомедицинских систем и технологий,

Санкт-Петербургский политехнический

университет Петра Великого

³Академия постдипломного образования

Федерального научно-клинического центра

специализированных видов медицинской помощи

и медицинских технологий ФМБА

⁴Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,

Санкт-Петербург

E-mail: miayu@yandex.ru

Возраст-ассоциированные заболевания печени являются одной из ведущих причин снижения трудоспособности и развития синдрома полиморбидности. Частота встречаемости неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и гепатита увеличивается с возрастом и составляет около 20% у трудоспособного населения развитых стран. Цель обзора – анализ молекулярных механизмов развития возрастной инволюции печени в норме и при патологии, а также поиск перспективных методов дифференциальной диагностики. В обзоре описана роль белков клеточного старения и апоптоза ($p16^{INK4a}$, $p21$, $p53$) и факторов, регулирующих клеточный цикл гепатоцитов ($Cdk1$, $Skp2$, $Ccne2$, pRb , сурвивин, $Ssu72$) в развитии патологии печени. При старении звездчатых клеток печени наблюдается увеличение экспрессии мРНК и синтеза белков α -SMA, коллагенов $1\alpha1$ и $1\alpha2$, PDGFR β . В обзоре показана неспецифичность традиционных клинических показателей функционального состояния печени. В качестве новых маркеров повреждения печени рассматриваются белки плазмы крови (CYP450, глутаматдегидрогеназа, сорбитдегидрогеназа, кератин-18, глутатион-S-трансфераза), сульфитоксидаза, цитokerатин-18 и других. Специфическими биомаркерами НАЖБП являются сывороточный уровень триглицеридов, miRNA-122, miRNA-10b, miRNA-33, а также статус метилирования MT-ND6. Возможным способом диагностики стеатогепатита являются молекулы FXR, FGF19, PPAR α , YAP/TAZ. Предполагается, что мишенями для действия гепатопротекторов нового поколения при возраст-ассоциированной патологии печени могут быть цитокины (TGF, TNF, IL-6) и фактор роста эндотелия сосудов.

Ключевые слова: старение, неалкогольная жировая дистрофия печени, неалкогольный стеатогепатит, гепатопротекторы, молекулярные маркеры.

Для цитирования: Мещерякова И.Е., Ильина А.Р., Линькова Н.С. и др. Возрастная патология печени: молекулярные маркеры и перспективные гепатопротекторы. Врач. 2020; 31 (6): 16–23. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-06-03>

Патология печени является одной из ведущих причин снижения трудоспособности и развития синдрома полиморбидности у пациентов старших возрастных групп. Известно, что частота встречаемости неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и гепатита увеличивается с возрастом. Физиологические процессы, связанные со старением различных органов и систем, могут способствовать прогрессированию патологии печени. Наиболее распространенным заболеванием печени является НАЖБП, которая встречается примерно у 25% взрослого населения развитых стран [1].

НАЖБП на стадии неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) повышает риск возникновения сахарного диабета (СД) и ускоряет прогрессирование атеросклероза. В пожилом и старческом возрасте часто развивается синдром полиморбидности. В связи с этим возраст старше 60 лет является фактором риска развития лекарственного повреждения печени (ЛПП) ввиду наличия неблагоприятных и синергических эффектов после приема большого количества лекарств для терапии сопутствующих заболеваний [2].

Кроме того, патогенез многих заболеваний печени является иммуноопосредованным, а с возрастом функции иммунной системы снижаются, развивается хроническое умеренное воспаление (inflamm-aging).

Таким образом, высокая распространенность и социальная значимость возраст-ассоциированных заболеваний печени, влияющих на качество жизни пациентов, обуславливают необходимость понимания фундаментальных механизмов развития патологии этого органа.

СТАРЕНИЕ ПЕЧЕНИ: ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ АСПЕКТЫ

Печень выполняет метаболические, синтетические и детоксикационные функции. С возрастом наблюдается снижение кровотока в печени и уменьшение ее объема. У лиц старше 65 лет объем крови в печени уменьшается примерно на 35% по сравнению с людьми моложе 40 лет [2]. При УЗИ печени пациентов выявлено уменьшение объема органа с возрастом на 20–40%, что было более выражено у женщин по сравнению с мужчинами [3].

Многофункциональность печени обеспечивается ее высокоорганизованной структурой. Морфофункциональным элементом печени является печеночная долька – клеточная система, ограниченная шестью портальными триадами (ветвь печеночной артерии, ветвь воротной вены и один или два разветвления желчных протоков). Долька печени состоит из эпителиальных клеток (гепатоцитов и холангиоцитов) и непаренхимных клеток, таких как синусоидальные эндотелиальные клетки печени (СЭКП), клетки Купфера и звездчатые клетки печени (ЗКП).

Организация кровеносной системы печени способствует тому, что состав крови, выходящей из дольки,

имеет другие характеристики, чем кровь, попадающая в дольку. По мере продвижения через дольки кровь становится дезоксигенированной, побочные продукты метаболизма выделяются из клеток по всей длине синусоидных сосудов. Это создает градиенты кислорода и питательных веществ в гепатоцитах в зависимости от их расположения в долке. В результате такого «метаболического зонирования» долька печени делится на 3 функциональные зоны.

Основным функциональным звеном печени, участвующим в поддержании гомеостаза, синтезе, хранении, распределении и детоксикации ксенобиотических соединений, является гепатоцит. Гепатоциты составляют примерно 70% общей массы паренхимы печени и обеспечивают метаболическую функцию органа. У лиц пожилого возраста вследствие уменьшения объема печени и кровотока в ней снижается метаболизм, что приводит к снижению детоксикационной функции органа. Метаболизм лекарственных средств в печени снижается на 30% у лиц старше 70 лет по сравнению с людьми молодого возраста, что связано с уменьшением активности цитохрома P450 [2].

Гепатоциты у лиц пожилого возраста содержат больше лизосом и липофусцина, чем у людей молодого возраста [4]. Липофусцин представляет собой белковые агрегаты, которые накапливаются при повреждении белков окислительным стрессом. Липофусцин вызывает увеличение выработки активных форм кислорода в клетках и их апоптоз. При старении гепатоцитов в них снижается количество митохондрий и увеличивается объем этих органелл, что приводит к снижению уровня АТФ [3]. Уменьшение площади гладкого эндоплазматического ретикулаума в гепатоцитах при их старении приводит к снижению синтеза белков, реализующих функции печени [5]. Старение печени также связано с нарушением регуляции обмена глюкозы и липидов. Накопление липидов в печени с возрастом может привести к патоморфологическим изменениям органа, способствуя развитию заболеваний. Известно, что инсулин, лептин и адипонектин являются ключевыми регуляторами липидного обмена в печени [6].

К изменениям, связанным со старением печени, относят полиплоидию гепатоцитов [2]. Прогрессирующая полиплоидия гепатоцитов – процесс, при котором клетки приобретают >2 наборов хромосом. В печени новорожденного все гепатоциты диплоидны. В постнатальном периоде в результате прогрессирующего неполного цитокинеза во время митоза образуются тетраплоидные и октаплоидные клетки. В печени взрослого человека полиплоидия достигает «плато» и наблюдается более чем в 20% гепатоцитов [7]. Частота и степень полиплоидии клеток увеличиваются при частичной гепатэктомии, радиационном или окислительном стрессе и старении. Предполагается, что полиплоидия гепатоцитов усиливает их функции, связанные с синтезом и секрецией белка, обменом веществ и детоксикацией

[8]. Полиплоидия обеспечивает защиту гепатоцитов от окислительного стресса и генотоксического повреждения, так как дополнительные наборы хромосом могут служить буфером против мутаций, повреждающих ДНК. Таким образом, полиплоидия гепатоцитов является компенсаторной реакцией на воздействие повреждающих факторов при старении организма.

Известно несколько путей регуляции полиплоидии гепатоцитов. Снижение уровня инсулина в крови приводит к уменьшению образования тетраплоидных гепатоцитов через путь регуляции фосфоинозитид-3-киназы / протеинкиназы В цитоскелета. Ингибирование фосфорилирования этого пути способствует реорганизации актинового цитоскелета [9].

Усилению полиплоидии клеток печени способствует сайленсинг регулируемых клеточным циклом факторов Cdk1, Skp2, Ccne2, pRb, сурвивина, Ssu72 и гена репарации эксцизионных нуклеотидов *ERCC1*. Факторы транскрипции E2F также способствуют полиплоидии гепатоцитов. Дефицит белка E2F8 индуцирует экспрессию генов-мишеней E2F, способствуя цитокинезу и предотвращая полиплоидию клеток печени. Одним из возможных механизмов полиплоидии клеток при старении печени может быть активация сигнального пути p16^{ink4a}, p21, p53. У старых мышей в полиплоидных гепатоцитах наблюдается увеличение экспрессии маркеров старения p16^{ink4a}, p21 и p53 по сравнению с молодыми животными. Более того, уровни экспрессии этих белков в октаплоидных клетках печени старых мышей были выше, чем в диплоидных и тетраплоидных гепатоцитах [10].

Холангиоциты – клетки, выстилающие внутрипеченочные и внепеченочные желчные протоки, участвующие в выработке желчи. Холангиоциты имеют морфологическую, биохимическую и функциональную гетерогенность. Пролиферация холангиоцитов регулируется с помощью аутокринных и паракринных факторов. К этим молекулам относятся трансформирующий фактор роста (TGF), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор некроза опухоли (TNF), интерлейкин (IL-6), ацетилхолин, а также гормоны тестостерон и эстроген [11]. Холангиоциты составляют 3–5% всех клеток печени и отвечают за выработку 30% общего объема желчи, а остальные 70% происходят из канальцевого секрета гепатоцитов [10].

Старение ассоциируется с устойчивостью клеток к апоптозу, что может способствовать сохранению «старяющихся» холангиоцитов. Транскрипционный фактор ETS1, который является эффектором сигнального пути RAS / MAPK, способствует выходу холангиоцитов из клеточного цикла в фазе G1 или G2 при взаимодействии с промоторными элементами CDKN2A (p16^{ink4a}), а также способствует фенотипическому переходу к устойчивости к апоптозу посредством индуцированной экспрессии BCL-xL (BCL2L1) путем рекрутинга гистонацетилтрансферазы p300, ремоделирующей хро-

матин. Семейство белков BCL2 играет центральную роль в митохондриально-зависимом апоптозе. В это семейство входят митохондриальные порообразующие эффекторные белки BAK и BAX, а также проапоптотические активаторы и антиапоптотические медиаторы, баланс которых определяет выживание или гибель клеток печени [12].

СЭКП представляют собой специализированную эндотелиальную популяцию клеток печени. Эти клетки у людей образуют фенестры размером от 50 до 180 нм в синусоидальном просвете. Структурная организация СЭКП важна для обмена белков и частиц между плазмой крови и клетками печени.

У людей пожилого возраста толщина слоя СЭКП увеличивается на 50%, тогда как количество и диаметр фенестр уменьшаются. Кроме того, старение приводит к увеличению экспрессии фактора фон Виллебранда, снижению экспрессии кавеолина-1 и увеличению экспрессии молекулы внутриклеточной адгезии-1 в СЭКП. Поскольку эндцитоз в СЭКП при их старении становится дисфункциональным, отложение циркулирующих продуктов в форме гигантских молекул вне печени увеличивается, что может повысить риск развития СД, атеросклероза, артрита и нейродегенеративных расстройств.

ЗКП располагаются в перисинусоидальном пространстве Диссе. В состоянии покоя ЗКП запасают витамин А в липидных каплях, который тратится активированными звездчатыми клетками при повреждении печени. ЗКП ответственны за отложение и структурирование коллагена в поврежденной печени. Этот процесс способствует образованию рубцов, что может привести к циррозу. Старение связано с активацией ЗКП, о чем свидетельствует увеличение экспрессии мРНК и синтеза белка α -SMA, коллагенов 1 α 1 и 1 α 2, PDGFR β и мозина, а также изменение ремоделирования межклеточного матрикса с участием белков TIMP-2 и MMP9 [13].

Иммунные клетки печени синтезируют комплемент, белки острой фазы воспаления и коагуляционные белки для контроля патогенной микрофлоры кишечника. При нарушении иммунной функции печени может развиваться неалкогольный стеатогепатит. В то время как гепатоциты и некоторые непаренхимные клетки обладают иммунологическими свойствами, множественные популяции CD45⁺ иммунных клеток временно или постоянно находятся в печени. В здоровой печени располагаются несколько популяций лимфоцитов, в том числе естественные киллеры (NK), Т- и В-клетки. У человека 40% резидентной популяции лимфоцитов печени составляют NK-клетки [2]. Клетки Купфера представляют собой резидентную популяцию макрофагов печени. Функция клеток Купфера заключается в удалении комплексов антиген-антитело или фрагментов «стареющих» клеток в синусоидальной сосудистой системе печени. Эти клетки могут выполнять про- или противовоспалительные функции при заживлении

ран печени в зависимости от ряда сопутствующих факторов. Установлено, что при старении длина теломер в клетках Купфера снижается, а в холангиоцитах и гепатоцитах не изменяется [3].

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННОЙ ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ

Усиление окислительного стресса, воспалительного ответа и ускоренное клеточное старение снижают способность печени к регенерации. Воздействие вирусов и бактерий, нарушение жирового обмена, токсическое поражение лекарственными препаратами и алкоголем нарушают функции печени, что приводит к гепатозу, гепатиту, циррозу или образованию опухолей.

К гепатозам относят все заболевания печени невоспалительного характера. В основе гепатоза лежит избыточное накопление жира в гепатоцитах (стеатоз). У пациентов со стеатозом регистрируют инсулинорезистентность и гипертриглицеридемию, которые характерны для метаболического синдрома. Гепатоз, как правило, встречается при НАЖБП и ЛПП.

Известно, что гепатиты являются группой воспалительных заболеваний печени инфекционного и неинфекционного происхождения. Возбудителями гепатитов могут являться вирусы (А, В, С, D, E, F, G). К невирусным формам заболевания относятся алкогольный, лекарственный, токсический, аутоиммунный и радиационный гепатит. Наиболее часто встречаются вирусные гепатиты. Согласно статистике, вирусные гепатиты В и С входят в число 10 основных причин смерти в мире. Около 170 млн человек в мире страдают гепатитом С, вдвое больше – гепатитом В [14].

Цирроз представляет собой конечную стадию различных заболеваний печени. Данный диагноз ставится, когда патологические изменения в гепатоцитах становятся необратимыми. На фоне гибели гепатоцитов происходит их замещение фиброзной тканью, а в некоторых случаях возможна малигнизация. К доброкачественным новообразованиям печени относят гемангиомы, гепатоцеллюлярную аденому, кисты, узелковую гиперплазию. К злокачественным патологиям печени относят первичный и метастатический рак.

Все патологические состояния печени (НАЖБП, НАСГ, алкогольная болезнь печени – АБП, ЛПП, гепатоцеллюлярная карцинома – ГЦК) характеризуются гепатоцеллюлярной гибелью. Прогрессирование патологии от здоровой печени к гепатоцеллюлярной карциноме возможно различными путями через НАЖБП, НАСГ, АБП и ЛПП (см. рисунок). НАЖБП в основном характеризуется стеатозом печени и в некоторых случаях прогрессирует до НАСГ. НАСГ может прогрессировать до цирроза, а затем до ГЦК [15].

В настоящее время «золотым стандартом» диагностики заболеваний печени является биопсия органа. Однако при таком способе тяжесть заболевания недооценивается ввиду того, что образец биопсии пред-

ставляет только 1/50 000 объема печени. Таким образом, поиск неинвазивных маркеров патологии печени является актуальной задачей молекулярной биологии и медицины.

Традиционным клиническим показателем функционального состояния печени является уровень в сыворотке крови ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), глутамилтранспептидазы, общего билирубина. Уровень общего билирубина в крови коррелирует с общей функцией печени, в то время как повышение концентрации АСТ/АЛТ связано с некрозом гепатоцитов, а высокий уровень ЩФ отражает повреждение эпителиальных клеток желчевыводящих путей или мембран клеток канальца [16]. Тем не менее традиционные биомаркеры, оцениваемые в плазме крови, не могут эффективно применяться для дифференциальной диагностики патологии печени. Это связано с различием механизмов гепатоцеллюлярной гибели клеток при различных заболеваниях печени [17].

МАРКЕРЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ

ЛПП может быть вызвано широким спектром лекарственных средств и биологически активных веществ [16]. Механизм, лежащий в основе ЛПП, до конца не выяснен, однако известно, что метаболиты лекарственных средств в печени могут вызывать окислительный стресс эндоплазматического ретикула (СЭР) и митохондрий гепатоцитов, что приводит к развитию некроза или апоптоза этих клеток. Кроме того, поглощение метаболитов лекарственных средств иммунными клетками способствует формированию аллергической реакции [18].

В настоящее время не существует единого мнения относительно диагностических маркеров ЛПП. Для диагностики этой патологии печени предлагают определение уровня цитохрома P450 (CYP450), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), сорбитдегидрогеназы (СДГ), кератина-18 (K18), глутатион-S-трансферазы (GST) в сыворотке крови [16].

Митохондриальный белок ГлДГ, кодируемый геном *GLUD1*, участвует в окислении аминокислот и синтезе мочевины. ГлДГ экспрессируется главным образом в митохондриях гепатоцитов, в меньшей степени – в митохондриях почек и скелетных мышц. Уровень ГлДГ является чувствительным маркером целостности митохондрий и предиктором некроза гепатоцитов [19]. Кроме того, уровень ГлДГ не зависит от пола или возраста. Тем не менее концентрация ГлДГ в плазме крови может повышаться и при отсутствии гепатотоксичности, например, у лиц без патологии печени, получавших лечение гепарином [16].

Белок промежуточного филамента цитоскелета I типа K18, ответственный за структуру и целостность клеток, экспрессируется всеми однослойными эпителиальными клетками, включая гепатоциты и холангиоциты. На ранней стадии апоптоза каспаза расщепляет белок K18 на стабильный фрагмент ссK18, который поступает в кровь. Вариант белка полной длины высвобождается из некротических клеток, тогда как ссK18 происходит из апоптотических клеток [20]. Повреждение печени может привести к некрозу и апоптозу гепатоцитов в зависимости от степени поражения печени. Следовательно, повреждение гепатоцитов может быть обнаружено путем измерения уровней K18 и ссK18. Установлено, что концентрация K18 и ссK18 в плазме крови была повышена при ЛПП, индуцированной ацетаминофеном. Однако с уровнями K18 и ссK18 в крови связаны и другие заболевания, такие как немелкоклеточный рак легких, рак желчных путей, хронический гепатит В, вирус гепатита С и НАЖБП [21]. Тем не менее различные заболевания печени вызывают повышение уровней K18 и ссK18, что является типичным признаком воспаления печени, а их соотношение можно использовать для оценки степени некроза и апоптоза гепатоцитов в сочетании с другими сигнальными молекулами [16].

Цитоплазматический фермент СДГ, экспрессирующийся преимущественно в печени и яичках, используется в качестве диагностического маркера заболеваний этих органов. Повышенный уровень СДГ в плазме крови пациентов, получавших подкожные инъекции нефракционированного гепарина, свидетельствуют о том, что СДГ может быть маркером повреждения клеток печени [22]. Кроме того, некоторые лекарства (D-пеницилламин, изониазид) подавляют экспрессию АЛТ и не позволяют оценить степень повреждения печени [23].

Цитоплазматический фермент GST участвует в метаболизме лекарственных средств. GST экспрессируется различными клетками печени и высвобождается в плазму крови при гибели клеток. Полиморфизм генов GST связан с восприимчивостью к ЛПП. Двойной отрицательный генотип GSTM1/GSTT1 может быть фактором риска развития гепатотоксич-



Схема прогрессирования патологии печени

Примечание. ХК – холангиокарцинома. Адаптировано из [15].

Liver pathology progression scheme. Adapted from [15]

ности, связанной с противотуберкулезными препаратами [24].

Суперсемейство ферментов CYP450 локализуется в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов и участвует в метаболизме лекарственных средств. Некоторые лекарства и их метаболиты могут вызывать повреждение печени, воздействуя на CYP450 или его изоформы. В частности, бортезомиб уменьшает активацию промотора цитохрома P450, индуцированную ядерным фактором гепатоцитов-1 α , и способствует развитию СЭР, снижая экспрессию CYP2E1 и стимулируя повреждение печени у мышей [25]. Кроме того, некоторые цитохромные ферменты, включая CYP2B6 [26] и CYP3A4 [27], были связаны с механизмом, вызывающим усиление некроза печени.

В молекулярно-биологических исследованиях используется множественный анализ с применением технологий геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики (омикс-технологии). Омикс-технологии позволяют получить целостную молекулярную картину функционирования биологических систем по сравнению с традиционными подходами [16]. С применением омикс-технологий оценивали гепатопротекторное действие диосцина при ЛПП в эксперименте. При действии диосцина у животных с ЛПП, вызванном ацетаминофеном (АРАР), была выявлена нормализация синтеза 6 белков: сульфитоксидазы, цитокератина-18, регукальцина, пероксиредоксина-1, малатдегидрогеназы и пуриновой нуклеозидфосфорилазы [28]. В исследовании с использованием протеомного анализа выявлено более 2700 белков, которые потенциально могут служить маркерами для дифференциальной диагностики ЛПП [16].

Таким образом, «золотым стандартом» для дифференциальной неинвазивной диагностики ЛПП остаются традиционные маркеры острого повреждения печени, такие как АЛТ, АСТ, ЩФ, общий билирубин, определяемые в крови. К новым маркерам ЛПП, находящимся в стадии изучения, относятся белки плазмы крови CYP450, ГлДГ, СДГ, К18, GST, сульфитоксидаза, цитокератин-18, регукальцин, пероксиредоксин-1 малатдегидрогеназа, пуриновая нуклеозидфосфорилаза и интегрин β 3.

МАРКЕРЫ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

НАЖБП характеризуется гепатоцеллюлярным отложением жира (стеатоз), на которое приходится >5% массы печени. Стеатоз может вызывать прогрессирующие патологические изменения в печени. Факторами риска фиброза печени и более высокой смертности пациентов с НАЖБП являются пожилой возраст, гипертония, ожирение, СД и гиперлипидемия. Известно, что сиртуин-1, экспрессия которого снижается при старении, играет ключевую роль в регуляции гомеостаза липидов и глюкозы. Эти данные свидетельствуют о том, что старение связано с развитием НАЖБП. Сле-

дует полагать, что активация синтеза сиртуина-1 может быть новой терапевтической стратегией для пациентов с НАЖБП [2].

Прогрессирование НАЖБП вызвано хроническим повреждением гепатоцитов, приводящим к воспалению и фиброзу. Признаком этого процесса является накопление избыточных свободных жирных кислот в гепатоцитах, хранящихся в виде триглицеридов в липидных каплях. Свободные жирные кислоты образуются в результате липолиза жировой ткани при усилении липогенеза печени *de novo* и воздействии внешних факторов, например, несбалансированной диеты, богатой сахарами и насыщенными жирными кислотами. Пальмитиновая кислота способствует метаболическому стрессу и апоптозу.

Установлено, что жирные кислоты вызывают СЭР. Дефицит питательных веществ и нарушение гомеостаза эндоплазматического ретикулума приводят к некорректному фолдингу мембранных и секреторных белков. Пальмитиновая кислота индуцировала экспрессию маркеров СЭР — белка, который взаимодействует с фосфоинозитид-3-киназой P13KIP1, глюкозрегулируемым белком теплового шока (GRP78) и интерлейкином-8 (IL-8). Комбинация пальмитиновой кислоты с олеиновой кислотой в соотношении 1:2 предотвращала индукцию P13KIP1, IL-8 и активацию JNK-пути, защищая гепатоциты от сигналов липотоксического стресса [29].

Важную роль в развитии НАЖБП играют генетические факторы. Полиморфизм гена, содержащего пататин-подобный фосфолипидный домен (PNPLA3), известный как I148M, ассоциируется с более высоким риском развития и прогрессирования НАЖБП. В гепатоцитах экспрессия PNPLA3 регулируется путем транспорта углеводов через стерол-регуляторный белок-связывающий элемент-1с [30].

Перспективным неинвазивным биомаркером для диагностики различных заболеваний печени является экспрессия коротких (22 нуклеотида) некодирующих РНК (miRNA), происходящих из различных тканей и органов и содержащихся в плазме крови. MiRNA оказывают посттранскрипционное влияние на экспрессию генов, связываясь с 3'-нетранслируемым участком мРНК-мишеней, что приводит к подавлению трансляции мРНК. В развитии НАЖБП участвуют miRNA-122, miRNA-10b, miRNA-33.

MiRNA-122 специфична для печени и играет критическую роль в регуляции биосинтеза липидов и холестерина в гепатоцитах. Нокадаун miRNA-122 приводит к снижению уровня холестерина и триглицеридов в плазме крови до 26–28%, а в результате нокаута miRNA-122 изменяется экспрессия генов *FASN*, *ACLY*, *PMVK*, *SCD1*, *ACC2*, участвующих в регуляции метаболизма липидов и углеводов. Кроме того, miRNA-122 регулирует экспрессию генов *HMGCS1*, *HMGCR* и *DHCR7*, участвующих в поддержании гомеостаза жирных кислот [31].

MiRNA-10b регулирует накопление липидов посредством влияния на ген рецептора PPAR- α . PPAR- α способствует кетогенезу, участвуя в метаболизме липидов в печени [32]. Гиперэкспрессия *MIR-10b* через действие на ген PPAR- α стимулирует накопление липидов и триглицеридов в гепатоцитах, что приводит к повреждению ткани и стеатозу печени [33].

MiRNA-33 расположены в генах *SREBP-1* и *-2*, которые кодируют транскрипционный фактор, способствующий поглощению и синтезу холестерина. *MiRNA-33* регулируют экспрессию генов *CROT*, *CPT1A*, *SIRT6*, *HADHA* и *PRKAA*, участвующих в метаболизме жирных кислот и передаче сигналов инсулина, которые являются факторами риска метаболического синдрома [34].

В последнее время приобретает популярность поиск эпигенетических маркеров различных патологий, в том числе НАЖБП. Динамическая природа эпигенетических модификаций является основой для объяснения перекрестных связей между НАЖБП, НАСГ и раком печени. Установлено, что метилирование ДНК печени и транскрипционная активность *MT-ND6* (митохондриальный ген, кодирующий NADH-дегидрогеназу б типа) связаны с тяжестью НАЖБП [35]. Это эпигенетическое изменение мтДНК может быть обратимо. Физическая активность может модулировать статус метилирования *MT-ND6*.

Таким образом, перспективными биомаркерами НАЖБП, выявляющими нарушения липидного обмена и превосходящими клинически используемые маркеры, являются уровень триглицеридов, *miRNA-122*, *miRNA-10b*, *miRNA-33* в плазме крови и статус метилирования *MT-ND6* мтДНК.

МАРКЕРЫ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

У 25% пациентов НАЖБП прогрессирует до НАСГ, который приводит к циррозу и раку печени. Длительное повреждение гепатоцитов при НАЖБП, хроническое повреждение печени любой этиологии, включая вирусные инфекции и алкогольные заболевания, способствует развитию НАСГ.

В развитии фиброза при НАСГ участвуют гепатоциты, макрофаги, ЗКП, В-клетки, НК-клетки, тромбоциты и лимфоциты. Стресс-индуцированная гибель гепатоцитов способствует активации макрофагов и развитию хронического воспаления, что приводит к макрофаг-опосредованной активации ЗКП и секреции ими фиброгенных факторов. Липидный стресс приводит к усилению экспрессии фиброгенных маркеров — коллагена-1 α и TIMP-1 (тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ I-го типа).

Повреждение гепатоцитов при НАСГ ведет к активации макрофагов посредством DAMP (фрагментов молекул, ассоциированных с повреждениями), высвобождаемых гепатоцитами при липидном стрессе и действующих на рецепторы макрофагов. Насыщенные жирные кислоты, холестерин и окисленные липиды

способствуют активации макрофагов и развитию провоспалительного фенотипа при НАСГ. Белки гепатоцитов ACC-1/2, FXR, FGF19, FXR4, SCD-1, участвующие в метаболизме липидов, являются возможными терапевтическими мишенями при НАСГ [1].

Активация макрофагов приводит к высокой продукции ими TNF, IL-1 β и TGF β . Медиаторы воспаления, происходящие из макрофагов, также могут влиять на стеатоз гепатоцитов. IL-1 β , синтезируемый макрофагами, подавляет экспрессию PPAR- α , приводя к снижению окисления жирных кислот и увеличению накопления триглицеридов в гепатоцитах.

Профиброзный цитокин TGF β играет центральную роль в активации ЗКП. Фармакологическое ингибирование TGF β частично снижает фиброз при НАСГ, однако более эффективным антифиброзным действием обладает комбинированное ингибирование передачи сигналов TGF β и IL-13 [36]. Установлено, что активность ЗКП регулируется эпигенетическими сигналами, включая *miRNA*, метилирование ДНК и модификацию гистонов. Кроме того, ключевыми молекулами, способствующими фиброзу, являются фактор роста тромбоцитов (TGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста соединительной ткани (CTGF) [1].

В ответ на хроническое повреждение печени при НАСГ активированные ЗКП трансформируются в миофибробласты. TGF β стимулирует дифференцировку фибробластов в миофибробласты [37]. Миофибробласты мигрируют к месту повреждения и секретируют компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ), что является ключевым этапом при фиброзе тканей. К ВКМ относят коллаген, неколлагеновые гликопротеины, гликозаминогликаны, протеоглики и синдеканы. ВКМ выполняет структурную функцию, контролирует выживание, пролиферацию и дифференцировку клеток печени. Изменение состава ВКМ при развитии НАСГ может влиять на функции печени, ее регенерацию и приводить к канцерогенезу. Увеличение жесткости ВКМ является для клеток печени сигналом к усилению эндотелиально-мезенхимального перехода и последующих фибротических процессов [38]. Жесткость ВКМ активирует сигнальные пути, ассоциированные с белками YAP (Yes-ассоциированный белок) и TAZ (транскрипционный ко-активатор с PDZ-связывающим мотивом), которые способствуют выработке профибротических медиаторов, усилению фиброза и являются потенциальной терапевтической мишенью для лечения НАСГ [37].

Белки YAP и TAZ регулируют пролиферацию, дифференцировку и жизнеспособность клеток. В ядре белки YAP и TAZ взаимодействуют с ДНК-связывающим фактором транскрипции TEAD. В цитоплазме белки YAP и TAZ регулируют сигнальные пути Hippo и Wnt, биосинтез мевалоната, энергетического стресса, аутофагии и гликолиза. Ингибирование белка YAP пре-

пятствует взаимодействию между YAP/TAZ и TEAD, блокирует индукцию экспрессии его генов-мишеней и дифференцировку миофибробластов из ЗКП. Активация TAZ в гепатоцитах способствует переходу от стеатоза к НАСГ. При этом ингибирование TAZ в гепатоцитах предотвращает фиброз в модели НАСГ у мышей [37].

Другими белками, участвующими в сигнальных путях развития НАСГ под действием липидного стресса и гиперпродукции TGF β , являются Notch и Hedgehog (Hh) [1].

Активность семейства трансмембранных рецепторов Notch (Notch1-4), управляемая лигандами мембран соседних клеток, приводит к Sox9-зависимому увеличению секреции остеопоны и активации ЗКП. Активность Notch почти отсутствует в гепатоцитах здоровой печени взрослого человека и незначительно повышается при стеатозе. При НАСГ активность Notch возрастает. Активация Notch стимулирует FoxO1 на промоторах гена глюкозагона, что приводит к непереносимости глюкозы [1]. Блокада сигналов Notch приводит к снижению накопления в печени миофибробластов, клеток-предшественников и ингибированию пролиферации гепатоцитов и холангиоцитов [39].

Система лигандов, рецепторов и транскрипционных факторов Hh ответственна за дифференцировку и репарацию клеток печени. В ответ на липотоксичность выработка Hh-лигандов в гепатоцитах стимулируется каспазой-2. Фармакологические и генетические подходы, которые ингибируют путь Hh, могут уменьшить фиброз и активацию ЗКП в печени. Дефицит этой каспазы ослабляет апоптоз с уменьшением индукции профиброгенных генов-мишеней и Hh. Блокирование передачи сигналов Hh в активированных ЗКП ингибирует фиброз печени.

Современное представление о молекулярных механизмах развития НАСГ позволяет предположить, что основной стратегией диагностики и терапии НАСГ является прямое или косвенное воздействие на взаимодействие гепатоцитов, макрофагов и ЗКП [40]. Регуляция сигнальных путей, которые способствуют метаболическому стрессу или гибели гепатоцитов посредством ингибирования ACC, ASK-1, SCD-1 или активации FXR, FGF19, PPAR α/δ , PPAR α/γ , может предотвратить развитие НАСГ.

Таким образом, старение и возраст-ассоциированная патология приводит к активации в гепатоцитах сигнальных путей p16^{ink4a}, p53-p21, сайленсинга регулируемых клеточным циклом факторов Cdk1, Skp2, Ccn2, pRb, сурвивина, Ssu72 и гена репарации экзационных нуклеотидов ERCC1. Мишенями для действия гепатопротекторов при старении печени и холангиопатиях могут быть факторы регуляции пролиферации холангиоцитов – TGF, VEGF, TNF, IL-6, ацетилхолин, тестостерон и эстроген. Старение печени связано с активацией ЗКП, о чем свидетельствует увеличение экспрессии мРНК и белков α -SMA, коллагенов 1 α 1 и 1 α 2,

PDGFR β и моэзина, а также изменение в некоторых генах ремоделирования матрикса, включая TIMP-2 и MMP9.

Процессы, связанные с возрастной инволюцией печени, воздействие вирусов и бактерий, нарушение жирового обмена, токсическое поражение печени лекарственными препаратами и алкоголем приводят к развитию патологии, основным проявлением которой является гибель гепатоцитов. В связи с тем, что молекулярно-клеточные механизмы гепатоцеллюлярной гибели при различных заболеваниях печени различаются, традиционные клинические показатели функционального состояния печени (АЛТ, АСТ, глутамилтранспептидаза, общий билирубин) не обладают высокой специфичностью.

К новым маркерам ЛПП, находящимся в стадии изучения, относят белки CYP450, ПДГ, СДГ, K18, GST, сульфитоксидаза, цитокератин-18, регукальцин, пероксиредоксин-1 малатдегидрогеназа, пуриновую нуклеозидфосфорилазу и интегрин β 3. Перспективными биомаркерами НАЖБП, выявляющими нарушения липидного обмена, являются уровень триглицеридов, miRNA-122, miRNA-10b, miRNA-33 в плазме крови и статус метилирования мтДНК МТ-ND6. Основной стратегией диагностики и терапии НАСГ является регуляция межклеточного взаимодействия гепатоцитов, макрофагов и ЗКП посредством активации белков FXR, FGF19, PPAR α/δ , PPAR α/γ и гепатоцит-специфического сайленсинга YAP/TAZ.

Финансирование.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/Reference

- Schwabe R.F., Tabas I., Pajvani U.B. Mechanisms of Fibrosis Development in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2020; pii: S0016-5085(20)30169-4. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.11.311
- Tajir K., Shimizu Y. Liver physiology and liver diseases in the elderly. *World J Gastroenterol*. 2013; 19 (5): 8459–67. DOI: 10.3748/wjg.v19.i46.8459
- Kim I.H., Kisseleva T., Brenner D.A. Aging and liver disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2015; 31 (3): 184–91. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000176
- Schmucker D.L., Sanchez H. Liver regeneration and aging: A current perspective. *Curr Gerontol Geriatr Res*. 2011; 2011:526379. DOI: 10.1155/2011/526379
- Basseri S., Austin R.C. Endoplasmic reticulum stress and lipid metabolism: mechanisms and therapeutic potential. *Biochem Res Int*. 2012; 2012: 841362. DOI: 10.1155/2012/841362
- Gong Z., Tas E., Yakar S. et al. Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease in aging. *Mol Cell Endocrinol*. 2017; 455: 115–30. DOI: 10.1016/j.mce.2016.12.022
- Schmucker D.L. Age-related changes in liver structure and function: Implications for disease? *Exp Gerontol*. 2005; 40 (8–9): 650–9. DOI: 10.1016/j.exger.2005.06.009
- Schoenfelder K.P., Fox D.T. The expanding implications of polyploidy. *J Cell Biol*. 2015; 209 (4): 485–91. DOI: 10.1083/jcb.201502016

9. Celton-Morizur S., Merlen G., Couton D. et al. The insulin/Akt pathway controls a specific cell division program that leads to generation of binucleated tetraploid liver cells in rodents. *J Clin Invest.* 2009; 119 (7): 1880–7. DOI: 10.1172/jci38677
10. Banales J.M., Huebert R.C., Karlsen T. et al. Cholangiocyte pathobiology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019; 16 (5): 69–281. DOI: 10.1038/s41575-019-0125-y
11. Jensen K., Marzoni M., Munshi K. et al. Autocrine regulation of biliary pathology by activated cholangiocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012; 302 (5): G473–83. DOI: 10.1152/ajpgi.00482.2011
12. O'Hara S.P., Splinter P.L., Trussoni C.E. et al. The transcription factor ETS1 promotes apoptosis resistance of senescent cholangiocytes by epigenetically up-regulating the apoptosis suppressor BCL2L1. *J Biol Chem.* 2019; 294 (4): 18698–713. DOI: 10.1074/jbc.RA119.010176
13. Maeso-Diaz R., Ortega-Ribera M., Fernández-Iglesias A. et al. Effects of aging on liver microcirculatory function and sinusoidal phenotype. *Aging Cell.* 2018; 17 (6): e12829. DOI: 10.1111/acel.12829
14. Mysore K.R., Leung D.H. Hepatitis B and C. *Clin Liver Dis.* 2018; 22 (4): 703–22. DOI: 10.1016/j.cld.2018.06.002
15. Beyoğlu D., Idle J.R. The metabolomic window into hepatobiliary disease. *J Hepatol.* 2013; 59 (4): 842–58. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.030
16. Fu S., Wu D., Jiang W. et al. Molecular Biomarkers in Drug-Induced Liver Injury: Challenges and Future Perspectives. *Front Pharmacol.* 2020; 10:1667. DOI: 10.3389/fphar.2019.01667
17. Luedde T., Kaplowitz N., Schwabe R.F. Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology.* 2014; 147 (4): 765–83.e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.07.018
18. Danjuma M.I., Sajid J., Fatima H. et al. Novel biomarkers for potential risk stratification of drug induced liver injury (DILI): A narrative perspective on current trends. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98 (50): e18322. DOI: 10.1097/MD.00000000000018322
19. Church R.J., Watkins P.B. The transformation in biomarker detection and management of drug-induced liver injury. *Liver Int.* 2017; 37 (11): 1582–90. DOI: 10.1111/liv.13441
20. Ku N.O., Strnad P., Bantel H. et al. Keratins: Biomarkers and modulators of apoptotic and necrotic cell death in the liver. *Hepatology.* 2016; 64 (3): 966–6. DOI: 10.1002/hep.28493
21. An J., Kim J.W., Shim J.H. et al. Chronic hepatitis B infection and nonhepatocellular cancers: A hospital registry-based, case-control study. *PLoS One.* 2018; 13 (3): e0193232. DOI: 10.1371/journal.pone.0193232
22. Harrill A.H., Roach J., Fier I. et al. The effects of heparins on the liver: Application of mechanistic serum biomarkers in a randomized study in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2012; 92 (2): 214–20. DOI: 10.1038/clpt.2012.40
23. Metushi I., Uetrecht J., Phillips E. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity: Then and now. *Br J Clin Pharmacol.* 2016; 81 (6): 1030–6. DOI: 10.1038/clpt.2012.40
24. Li S., Xue F., Zheng Y. et al. GSTM1 and GSTT1 null genotype increase the risk of hepatocellular carcinoma: evidence based on 46 studies. *Cancer Cell Int.* 2019; 19 (1): 76. DOI: 10.1186/s12935-019-0792-3
25. Park W.J., Kim S.Y., Kim Y.R. et al. Bortezomib alleviates drug-induced liver injury by regulating CYP2E1 gene transcription. *Int J Mol Med.* 2016; 37 (3): 613–22. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2461
26. Li L., Li D., Heyward S. et al. Transcriptional regulation of CYP2B6 expression by hepatocyte nuclear factor 3β in human liver cells. *PLoS One.* 2016; 11 (3): e0150587. DOI: 10.1371/journal.pone.0150587
27. Wang D., Lu R., Rempala G. et al. Ligand-free estrogen receptor α (ESR1) as master regulator for the expression of CYP3A4 and other cytochrome P450 enzymes in the human liver. *Mol Pharmacol.* 2019; 96 (4): 430–40. DOI: 10.1124/mol.119.116897
28. Gao Y., Cao Z., Yang X. et al. Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential plasma biomarker of liver injury. *Proteomics Clin Appl.* 2017; 11 (1–2). doi: 10.1002/prca.201600123
29. Bruschi F.V., Tardelli M., Herac M. et al. Metabolic regulation of hepatic PNPLA3 expression and severity of liver fibrosis in patients with NASH. *Liver Int.* 2020; 40 (5): 1098–110. DOI: 10.1111/liv.1440
30. Annegowda V.M., Devi H.U., Rao K. et al. Immunohistochemical study of alpha-smooth muscle actin in odontogenic cysts and tumors. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2018; 22 (2): 188–92. DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP_31_18
31. Krützfeldt J., Rajewsky N., Braich R. et al. Silencing of microRNAs *in vivo* with «antagomirs». *Nature.* 2005; 438 (7068): 685–9. DOI: 10.1038/nature04303
32. Pawlak M., Lefebvre P., Staels B. Molecular mechanism of PPARα action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2015; 62 (3): 720–33. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.039
33. Yu J., Peng J., Luan Z. et al. MicroRNAs as a novel tool in the diagnosis of liver lipid dysregulation and fatty liver disease. *Molecules.* 2019; 24 (2): pii: E230. DOI: 10.3390/molecules24020230
34. Sulaiman S.A., Muhsin N.I.A., Jamal R. Regulatory non-coding RNAs network in non-alcoholic fatty liver disease. *Front Physiol.* 2019; 10: 279. DOI: 10.3389/fphys.2019.00279
35. Sun C., Fan J.G., Qiao L. Potential epigenetic mechanism in non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.* 2015; 16 (3): 5161–79. DOI: 10.3390/ijms16035161
36. Dadrich M., Nicolay N.H., Flechsig P. et al. Combined inhibition of TGFβ and PDGF signaling attenuates radiation-induced pulmonary fibrosis. *Oncotarget.* 2016; 5 (5): e1123366. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1123366
37. Noguchi S., Saito A., Nagase T. YAP/TAZ signaling as a molecular link between fibrosis and cancer. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (11): pii: e3674. DOI: 10.3390/ijms19113674
38. Dupont S. Role of YAP/TAZ in cell-matrix adhesion-mediated signalling and mechanotransduction. *Exp Cell Res.* 2016; 343 (1): 42–53. DOI: 10.1016/j.yexcr.2015.10.034
39. Tsuchida T., Friedman S.L. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 14 (7): 397–411. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.38
40. Zhu C., Kim K., Wang X. et al. Hepatocyte Notch activation induces liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Sci Transl Med.* 2018; 10 (468): eaat0344. DOI: 10.1126/scitranslmed.aat0344

AGING AND LIVER PATHOLOGY: MOLECULAR AND CELL ASPECTS

I. Mesheriakova¹; A. Ilina^{1,2}; N. Linkova^{1,3}. Doctor of Biological Sciences; M. Koroleva³, Candidate of Medical Sciences; Professor V. Khavinson^{1,4}, Corresponding Member of RAS

¹Saint Petersburg Bioregulation and Gerontology Institute

²Institute of biomedical systems and biotechnologies, Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University

³Academy of Postgraduate Education under Federal Scientific and Clinical Center for Specialized types Medical Assistance and Medical Technologies of the FMBA, Moscow

⁴Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg

Age-associated liver disease is one of the leading causes of reduced ability to work and the development of polymorbidity syndrome. The incidence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and hepatitis increases with age and is about 20% in the working-age population of developed countries. The purpose of the review is to analyze the molecular mechanisms of development of age-related liver involution in normal and pathological conditions and to search for promising methods of differential diagnosis. The review describes the role of cell aging proteins and apoptosis (p16^{ink4a}, p21, p53) and factors that regulate the hepatocyte cell cycle (Cdk1, Skp2, Ccne2, pRb, survivin, Ssu72) in the development of liver pathology. Blood plasma proteins (CYP450, GLDH, SDH, K18, GST), sulfotransferase, cytokeratin 18, etc. are considered as new markers of liver damage. Serum triglycerides, miRNA-122, miRNA-10b, miRNA-33 are specific biomarkers of NAFLD also methylation status MT-ND6. A possible way of steatohepatitis diagnostic to influence the signaling of FXR, FGF19, PPARα, YAP / TAZ. It is assumed that the targets for the action of new generation hepatoprotectors in case of age-related liver pathology may be cytokines (TGF, TNF, IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF).

Key words: aging, non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, hepatoprotectors, molecular markers.

For citation: Mesheriakova I., Ilina A., Linkova N. et al. Aging and liver pathology: molecular and cell aspects. *Vrach.* 2020; 31 (6): 16–23. <https://doi.org/10.29296/25877305-2020-06-03>

Об авторах / About the authors: Mesheriakova I.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4421-9157>; Ilina A.R. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7112-1534>; Linkova N.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7453-4326>; Koroleva M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3667-4560>; Khavinson V.Kh. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7547-7725>