

Роль молекулярно-генетических факторов в патогенезе и диагностике неалкогольной жировой болезни печени (обзор литературы и собственные данные)

Д. В. Сидоренко, ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины

В. Д. Назаров, к.м.н., м.н.с. лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Минздрава России

С. В. Лапин, к.м.н., зав. лабораторией диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра молекулярной медицины Минздрава России

В. Л. Эмануэль, д.м.н. проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, директор Научно-методического центра по молекулярной медицине Минздрава России

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Role of molecular genetic factors in pathogenesis and diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (literature review and own data)

D. V. Sidorenko, V. D. Nazarov, S. V. Lapin, V. L. Emanuel

First Saint Petersburg State Medical University n.a. I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Неалкогольная жировая болезнь печени является самым распространенным заболеванием печени и, как правило, имеет доброкачественное течение. Но при формировании стеатогепатита значительно увеличивается вероятность развития фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы. На данный момент нет надежных предикторов агрессивного течения заболевания, но наиболее перспективными кандидатами на эту роль могут стать молекулярно-генетические методы. В статье рассматривается роль генов PNPLA3, TM6SF2, SERPINA1 и HFE в патогенезе и течение неалкогольной жировой болезни печени, а также приведены данные по распространенности патологических аллелей данных генов среди пациентов, проживающих в г. Санкт-Петербурге.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, ген PNPLA3, ген TM6SF2, ген SERPINA1, ген HFE.

Summary

Non-alcoholic fatty liver disease is the most common liver disease, which usually has a benign course. After the occurrence of steatohepatitis the risk of developing fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma significantly increases. At the moment, there are no reliable predictors of the aggressive course of this patients' disease, but genetic aberrations are the most promising predictor markers. This article devoted to the role of the PNPLA3, TM6SF2, SERPINA1 and HFE genes in the pathogenesis and course of non-alcoholic fatty liver disease. Data of the prevalence of pathological alleles of these genes among patients living in St. Petersburg is also included.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, PNPLA3 gene, TM6SF2 gene, SERPINA1 gene, HFE gene.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) остается самым распространенным заболеванием печени и одной из ведущих причин трансплантации этого органа в развитых странах наряду с вирусным гепатитом С и циррозом, ассоциированным с употреблением алкоголя [1]. В зависимости от возраста, пола и этнической принадлежности частота НАЖБП в развитых странах варьирует в широких пределах – от 6 до 35 % (медиана 20 %) [2]. Основной клинической формой течения заболевания является простой стеатоз или неалкогольный жировой гепатоз (НАЖГ), но в 10 % случаев, то есть 2–5 % от всей популяции, наблюдается активное воспаление и фиброз паренхимы печени [3], – такую форму

называют неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). По данным некоторых авторов, у 2,5 % больных с НАСГ можно ожидать развития цирроза или гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), при этом прогрессия заболевания в цирроз и ГЦК в среднем происходит через 57 и 28 лет от начала заболевания соответственно [4]. Несмотря на медленное развитие патологического процесса, в связи с поздней диагностикой и бессимптомным течением многие авторы причисляют НАЖБП к ведущей причине криптогенного цирроза [5].

Формально НАЖБП является мультифакториальным заболеванием, в развитии которого участвуют разные факторы, однако ведущая роль в ее развитии принадлежит инсулиноре-

зистентности (ИР) и метаболическому синдрому (МС). Под влиянием снижения восприимчивости периферических тканей к инсулину и при повышении его концентрации в плазме крови происходит усиление липолиза и повышение концентрации свободных жирных кислот (СЖК). Последние в свою очередь поступают в печень и накапливаются в виде триглицеридов (ТГ). При этом снижается интенсивность окисления СЖК и усиливается путь выведения липидов из печени путем секреции ЛПОНП и ЛПНП. Таким образом, нарушается баланс накопления и утилизации липидов печени, что со временем приводит к стеатозу. Вместе с этим в гепатоцитах активируется β -пероксисомное и Ω -микро-сомное окисление, накапливаются

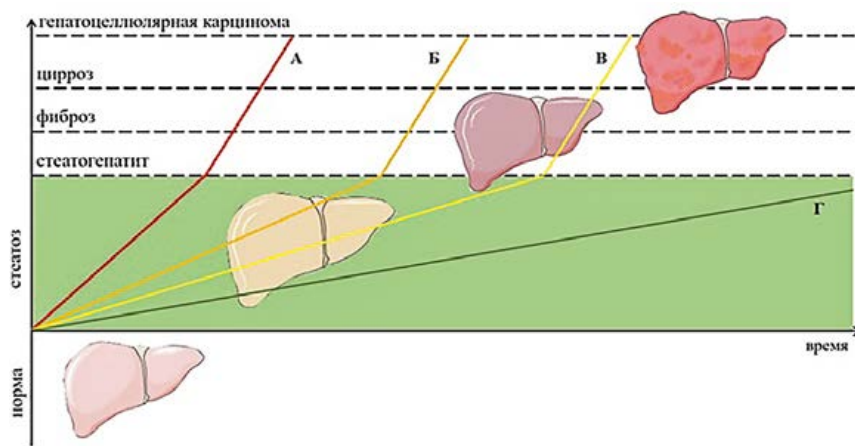


Рисунок 1. Варианты прогрессии НАЖБП с течением времени. Примечание: в зеленой зоне находится сравнительно доброкачественное течение болезни. Находясь в этой зоне, НАЖБП не влияет на продолжительность жизни больного (Г), однако при достижении стадии НАСГ заболевание прогрессирует до цирроза, и ГЦК значительно ускоряется (А, Б, В).

продукты перекисного окисления липидов, повреждающие митохондрии. Накопление FASL и ФНО запускает процессы апоптоза и некроза клеток печени, а воспалительная инфильтрация с течением времени приводит к фиброзу, циррозу и ГЦК [6]. Инсулинорезистентность ассоциирована с постоянным низкоактивным воспалением и выделением спектра паракринных медиаторов, высвобождающихся из иммунных и клеток жировой ткани, что опосредует повреждение печени и прогрессию заболевания [7]. Для формирования НАЖБП также важны факторы среды, такие как диета, ожирение, употребление медикаментов и сидячий образ жизни, дисбактериоз кишечника, а также различные генетические изменения [8].

Наиболее часто заболевание протекает в форме простого стеатоза, он сопровождается доброкачественным течением на протяжении многих лет и не является показанием к началу терапии (рис. 1 Г). Формирование стеатогепатита свидетельствует о более агрессивном течении НАЖБП и предрасполагает к стремительному прогрессу заболевания, который с высокой вероятностью приведет к сокращению продолжительности жизни (рис. 1 А, Б, В). Таким образом, для определения тактики ведения пациента необходимо спрогнозировать, как скоро произойдет конверсия НАЖБП в НАСГ.

На данный момент исследуется ряд модулирующих факторов, таких как показатели липидного спектра,

особенности питания, состав микробиоты кишечника, способных определять прогноз НАЖБП. В последнее время особое внимание привлекают генетические маркеры, способные не только усугублять течение заболевания, провоцируя формирования более агрессивных форм, но и быть основным триггером для его развития.

Так, в практических рекомендациях EASL по лечению НАЖБП уже появились упоминания о полиморфизмах I148M гена *PNPLA3* и E167K гена *TM6SF2* и их связи с риском развития НАСГ и ГЦК. Генетические маркеры, не имеющие прямой корреляции с механизмами инсулинорезистентности, способны определить прогноз для более широкой категории пациентов. Наличие полиморфизмов, связанных с развитием НАЖБП, может послужить основанием для более раннего начала терапии заболевания, определить показания к проведению биопсии печени, а также стать мишенью для таргетной терапии в дальнейшем. Сейчас рассматривается целый ряд генов-кандидатов, которые могут влиять на скорость развития заболевания, а также напрямую участвовать в патогенезе НАЖБП [9].

Полиморфизм I148M гена *PNPLA3*

В 2008 году в ходе исследований GWAS (Genome-Wide Association Studies) Romeo с коллегами обратили внимание на ген *PNPLA3* (*patatin like phospholipase domain containing 3*)

в связи со стойкой ассоциацией его полиморфизма I148M (rs738409 C>G) с повышенным накоплением жирового компонента в печени у больных НАЖБП [10].

Кодируемый белок гена *PNPLA3* (1-ацилглицерол-3-фосфат О-ацилтрансфераза [адипонутрин]) выполняет функции гидролазы триглицеридов, ацилтрансферазы лизофосфатидной кислоты и эстеразы ретинола пальмитата. В организме человека он преимущественно локализуется в звездчатых клетках печени и гепатоцитах, а также присутствует в сетчатке, коже, жировой ткани, почках, мозге и селезенке [11]. Адипонутрин в основном действует как триглицеридная гидролаза, переносящая полиненасыщенные жирные кислоты (ЖК) из триглицеридов в фосфатидилхолин, тем самым повышая соотношение ненасыщенных ЖК к насыщенным в печени [12].

При наличии I148M полиморфизма гена *PNPLA3* измененный белок теряет способность к гидролизу эмульсированных триглицеридов, откладывается вокруг жировых капель, препятствует фикциям других липолитических ферментов, что приводит к макровезикулярному стеатозу. Снижение внутривезикулярного расщепления липидов нарушает секрецию липопротеинов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП). При задержке гидролиза ретинола увеличивается жировая фракция в звездчатых клетках печени, которые активируются и трансформируются в миофибробластоподобные клетки, секретирующие коллаген. Нарушается соотношение функциональных клеток печени и соединительной ткани – развиваются фиброз и его осложнения [6].

В опытах на мышах с гиперэкспрессией I148M варианта гена *PNPLA3* было продемонстрировано повышение образования ЖК в печени, нарушение гидролиза ТГ и снижение в составе ТГ количества полиненасыщенных ЖК [13]. По данным других авторов, изолированное выключение гена у мышей с нормальным питанием не ведет к развитию НАЖБП, тогда как у мышей на диете с преобладанием сахарозы увеличивает риск заболевания в 2–3 раза [14]. В других

экспериментах при оглушении мутантного варианта гена с помощью антисмысловых олигонуклеотидов удалось добиться снижения содержания жирового компонента печени у мышей на высокоуглеводной диете, а также уменьшения процессов воспаления и фиброза в печени у животных с индуцирующим НАЖБП питанием [15]. Таким образом, можно говорить о том, что полиморфизм гена *PNPLA3* играет важную роль в патогенезе НАЖБП.

В мета-анализе, посвященном распространенности I148M полиморфизма гена *PNPLA3*, по данным 23 исследований по всему миру, в которых приняло более 16 тысяч человек, частота патологической G-аллели в группе контроля составила около 34,8 %, тогда как ее распространенность среди пациентов с НАЖБП – 49,5 % [16].

При изучении клинической значимости полиморфизма в дальнейших исследованиях S. Romeo с коллегами была установлена ассоциация между наличием полиморфизма гена *PNPLA3* и повышением значения АЛТ и сниженным содержанием адипонутрина [10]. S. Sookoian с коллегами обнаружили у гомозиготных носителей SNP I148M склонность к более интенсивному накоплению липидов в печени и более скорому формированию стеатогепатита по сравнению с гетерозиготами и пациентами без полиморфизма [17]. В опытах M. Krawczyk с коллегами наличие данного полиморфизма было названо самостоятельным фактором риска развития стеатоза S2–S3 и фиброза F2–F4, кроме того, носители чаще, нежели контрольная группа, нуждались в проведении биопсии печени [18]. Кроме того, было показано, что G-аллель полиморфизма в два раза повышает вероятность развития цирроза печени, в то время как у гомозиготных носителей риск утроен по сравнению с пациентами без мутации [19]. A. Khlaiphuengsin с коллегами было показано, что наличие I148M у больных с НАЖБП предрасполагает к формированию ГЦК, но не имеет влияния на ее прогноз [20]. Также не было установлено достоверной корреляции между наличием I148M

полиморфизма *PNPLA3* и ожирением (ИМТ), уровнями ТГ, ЛПНП, ЛПВП и сахарным диабетом второго типа [21] и индекса IR-HOMA [17]. Эти исследования позволяют предположить роль полиморфизма I148M как независимого от ИР механизма развития НАЖБП.

Таким образом, молекулярно-генетическое обследование на наличие полиморфизмов гена *PNPLA3* для прогноза скорости развития агрессивных форм НАЖБП может быть рекомендовано как пациентам с нарушением углеводного и жирового обменов, так и без них.

Полиморфизм E 167K гена *TM6SF2*

Еще одним геном, в отношении которого в ходе исследования GWAS была установлена связь с развитием НАЖБП, является *TM6SF2* (*transmembrane 6 superfamily member 2*) и его полиморфизм E 167K (rs2294918) [22].

Кодируемый белок гена *TM6SF2* осуществляет перенос нейтральных липидов из цитоплазмы в липидные капли в гепатоцитах, участвует в формировании ЛПОНП и ЛПНП [23]. Также ген широко экспрессируется в тонком кишечнике, в связи с чем исследователи предположили возможность его непосредственного влияния на абсорбцию жиров из ЖКТ. Эту гипотезу подтверждают эксперименты, выявившие более низкие уровни постпрандиальных ТГ крови у носителей данного полиморфизма [24].

Механизмы формирования стеатоза в данном случае недостаточно изучены, но известно, что супрессия гена приводит к снижению ЛПНП и холестерина плазмы, повышению внутриклеточного накопления ТГ и эфиров холестерина и повышению синтеза ТГ в печени [25]. Также отмечается перераспределение липидных фракций в печени в пользу более насыщенных, снижается содержание арахидоновой кислоты. Гепатоциты секретируют липопротеин-подобные фракции меньшего диаметра, количество эндосом и лизосом в них увеличивается, а активность митохондриального окисления, напротив, падает [26]. Также было установлено, что мутация повышает содержание циклина D1, p53 и Rb и снижает p27,

что нарушает энергетический метаболизм клеток и способствует развитию ГЦК [27].

В экспериментах нокаутирования *TM6SF2* с помощью малых интерферирующих РНК приводило к снижению экспрессии DGAT1 и DGAT2 (диацилглицерол О-ацилтрансфераза 1 и 2) и ACSS2 (ацил-коэнзим А синтетаза коротких цепей 2 семейства), эти ферменты необходимы для внутрипеченочного синтеза ТГ и продукции ЛПНП [28]. В опытах на мышцах с дефицитом белка, кодируемого геном *TM6SF2*, были отмечены низкий уровень липидов плазмы и повышенное содержание липидного компонента в печени за счет угнетения секреции ТГ [29]. Таким образом, происходит перераспределение липидов в организме – липопротеины низких фракций задерживаются в печени, обуславливая ее стеатоз, но в то же время можно говорить о кардиопротективном действии мутации.

В исследовании, проведенном на 445 субъектах европеоидного происхождения, доля патологической аллели полиморфизма E 167K гена *TM6SF2* в контрольной группе составляет около 5,7 %, тогда как ее распространенность среди пациентов с НАЖБП – 11,5 % [30].

При изучении клинической значимости полиморфизма A. Viitasalo с коллегами обнаружили у носителей повышение уровня АЛТ, а также снижение содержания в плазме общего ХС, ТГ и ЛПНП [31]. P. Dongiovanni с коллегами установили, что, по данным биопсии, носители E 167K более интенсивно накапливают жировой компонент печени, а также быстрее развивают более агрессивные формы НАЖБП – стеатогепатит и фиброз [32]. Y. Liu с коллегами установили связь между наличием изменений в гене *TMSF2* и развитием фиброза посредством оценки выраженности признаков воспаления и баллонной дегенерации гепатоцитов в биоптатах печени. Также авторы установили, что наличие SNP E 167K коррелирует с наличием стеатоза и развитием фиброза у пациентов с НАЖБП независимо от других факторов, включая диабет, ожирение и генотип *PNPLA3* [33]. D. Kim с коллегами обнаружили ас-

социацию между наличием полиморфизма гена *TM6SF2* и повышенным риском развития диабета второго типа [34], что может являться дополнительным фактором накопления липидов в печени. Кроме того, E. Falletti с коллегами установили, что изменения в гене *TM6SF2* достоверно чаще обнаруживаются в пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, что может говорить о канцерогенном влиянии мутации [35].

Таким образом, данный полиморфизм обуславливает перераспределение липидных фракций в организме в пользу их отложения в печени и тем самым развитие более агрессивным форм течения НАЖБП.

Полиморфизм гена *SERPINA1*, кодирующего альфа1-антитрипсин

Воспаление играет большую роль в развитии ожирения и НАЖБП [36]. Детали этого механизма еще не до конца ясны, но установлено, что ФНО, ИЛ-1 β и ИЛ-18 способны влиять как на иммунитет, так и на метаболизм в целом [37]. В исследованиях на мышцах с дефицитом нейтрофильной эластазы (фермент, участвующий в синтезе предшественников вышеупомянутых цитокинов) была продемонстрирована устойчивость к набору веса, инсулинорезистентности и накоплению жиров в печени на высокожировой диете [38]. В связи с этим внимание исследователей привлек ген *SERPINA1* (*serine protease inhibitor; group A, member 1*), кодирующий белок α 1-антитрипсин (A1AT) или α 1-ингибитор протеиназы. Существует несколько вариантов аллелей *SERPINA1*, в европейской популяции наиболее распространены M1, M2, M3, M4, S и Z. Подтип M не вызывает патологии (100%-ная концентрация A1AT), а варианты S и Z снижают уровень A1AT в плазме до 50–60% и 10–15% соответственно [39].

Сывороточный белок α 1-антитрипсин выполняет функцию главного плазменного ингибитора сериновых протеаз с высокой аффинностью к нейтрофильной эластазе (НЭ), а также относится к группе острофазных белков. Его активность наиболее высока в рыхлой соединительной ткани нижних дыхательных путей, где он

препятствует бесконтрольному протеолизу в ответ на воспаление [40]. A1AT обладает иммуномодуляторной активностью – в экстрацеллюлярном матриксе он связывается с продуктами дегрануляции нейтрофилов и предотвращает их ферментативную активность, тем самым препятствуя образованию провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ-1 β и ИЛ-18) [41].

Основным механизмом повреждения печени при нарушениях в гене *SERPINA1*, особенно выраженном у P1*Z-фенотипа, является накопление дефектного A1AT и блок его секреции из ЭПС гепатоцитов. Это ведет к так называемому отклику неструктурированных белков, в результате которого клетка погибает апоптозом. Также это может приводить к пролиферации клеток, сопутствующему воспалению и фиброзу [42].

По данным мета-анализа 373 когорт, включавших в себя более 161 тысячи человек по всему миру, распространенность P1*S-аллели гена *SERPINA1* составила 2,95%, а P1*Z-аллели – 1,07% [43].

При изучении клинической изменений в гене *SERPINA1* K. Hamesch с коллегами у взрослых P1*ZZ-носителей зарегистрировали более выраженное накопление жира и нарушение выведения липидов из печени, а также более высокие показатели фиброза по сравнению с контрольной группой по данным неинвазивных методов исследования [44]. A. Regev с коллегами обнаружили, что пациенты с НАЖБП и P1MZ-фенотипом предрасположены к развитию более тяжелых повреждений печени и чаще нуждаются в трансплантации этого органа по сравнению с контрольной группой [45]. Это может говорить об отягощающем влиянии мутаций в генах *SERPINA1* на течение НАЖБП. Однако другие исследователи пришли к выводу, что мутации в гене *SERPINA1* ассоциированы с гиперферритинемией и накоплением железа в синусоидах печени и не связаны напрямую с повреждением печени при НАЖБП [46]. P. Strnad с коллегами при изучении когорты из 1184 человек с НАЖБП установили, что Z-аллель гена *SERPINA1* является фактором риска развития цирроза, в то время

как в отношении S-аллели такой корреляции установлено не было [47]. E. El-Rayah с коллегами установили, что Z-фенотип α 1-антитрипсина чаще встречается среди пациентов с НАЖБП-индуцированным циррозом, что может говорить о мутациях в гене *SERPINA1* как об отягощающем факторе течения заболевания [48].

Таким образом, исследование пациентов с НАЖБП на наличие мутаций в гене *SERPINA1* могут послужить в качестве дифференциальной диагностики с повреждением печени при дефиците α 1-антитрипсина, а также фактором прогноза развития агрессивных форм заболевания.

Гемохроматоз и НАЖБП

Гиперферритинемия рассматривается как одна из причин развития НАЖБП, обусловленная накоплением железа в гепатоцитах [49]. Отмечено, что перегрузка печени железом ведет к нарушению метаболизма инсулина в печени крыс [50]. Кроме того, диета с ограничением потребления железа у пациентов с НАЖБП не только снижала инсулинорезистентность сильнее, нежели простая коррекция образа жизни [51], но и напрямую влияла на уровень печеночных трансаминаз [52].

Полиморфизм C282Y гена *HFE* является ведущей причиной развития наследственного гемохроматоза во всем мире [53]. У млекопитающих контроль метаболизма железа достигается за счет регуляции его абсорбции в двенадцатиперстной кишке белком гепсидином. Он принимает участие в деградации экспортера железа ферропортина (FPN), таким образом снижая пассаж железа из энтероцитов в кровяное русло. Гепсидин синтезируется в печени, этот процесс стимулируется повышением концентрации железа крови и осуществляется посредством взаимодействия белка HFE с геном *HAMP* (*hepcidin antimicrobial peptide*) в гепатоците [54, 55].

Бесконтрольное повышение поступления железа приводит к полному насыщению буферной емкости трансферрина сыворотки. Это ведет к появлению в крови не связанных с трансферрином и обладающих высокой реактивностью форм железа.

Эти прооксидантные формы попадают в паренхиму печени, где образуются свободные активные радикалы [56]. Это приводит к повреждению ДНК, белков и мембран. Вызванное железом повреждение гепатоцитов приводит к паракринной индукции секреции коллагена звездчатыми клетками и перипортальными миофибробластами и в результате к фиброзу, длительно текущему микроузловому циррозу и гепатоцеллюлярной карциноме [57].

В моделях НАЖБП, индуцированной высокожировой диетой, у нокаутированной по *HFE* мыши наблюдались нарушение накопления жиров в печени в пользу липогенеза и митохондриальная дисфункция, что может говорить о протективной роли гена в отношении липотоксичности. Также у животного были зарегистрированы более низкий уровень гепсидина и более выраженный стеатоз [58]. Кроме того, нокаутированная мышь продемонстрировала повышенный уровень внутривнутрипеченочной гипоксии даже на сбалансированной диете, а также увеличение уровня ФНО- α , свободных радикалов кислорода и активности макрофагов. Это отражает окислительное и провоспалительное действие избытка железа в печени [59].

При анализе 24 исследований, проводимых в Европе, с общим числом участников 6203 человека частота встречаемости полиморфизма C282Y гена *HFE* составила около 90 : 1000 в гетерозиготном варианте и 4 : 1000 – в гомозиготном [60].

При исследовании клинической значимости изменений в гене *HFE* Q. Ye с коллегами в мета-анализе, охватившем 43 исследования с 5758 больными НАЖБП и контрольной группой из 14741 человек, установили, что мутации C282Y и H63D повышают вероятность развития НАЖБП и ГЦК, но не цирроза печени [61]. Однако L. Valenti с коллегами установили, что отложение железа в гепатоцитах связано с более выраженным поражением печени при НАЖБП, при этом ассоциации между генотипом *HFE* и развитием фиброза обнаружено не было [51]. J. Raszeja-Wyszomirska с коллегами также назвали повышение уровня железа сыворотки фактором риска развития более агрессивных

Таблица
Распространенность патологических аллелей генов *PNPLA3*, *SERPIN1* и *HFE* среди пациентов с НАЖБП, живущих в г. Санкт-Петербурге

<i>PNPLA3</i>	GG, %	GC, %	CC, %	
	11,1	47,2	41,7	
<i>SERPINA1</i>	MS, %	MZ, %	MM, %	
	8,3	5,6	86,1	
<i>HFE</i>	H63D, %	S65C, %	C282Y, %	WT, %
	16,7	2,8	5,6	75,0

форм НАЖБП, но не нашли такой связи с генотипом *HFE* [62]. Кроме того, в мета-анализе R. Hernaez и коллег, где оценивались 16 исследований из различных стран и включающих 1836 пациентов с НАЖБП и 7388 здоровых людей, не было установлено связи между развитием заболевания и генетическими вариантами гена *HFE* [63].

Таким образом, уровень сывороточного железа является более точным предиктором развития осложненных форм НАЖБП, нежели генотип *HFE*.

Исследование в Санкт-Петербурге

Для пилотного исследования, проведенного в г. Санкт-Петербурге, было отобрано 36 пациентов с подтвержденным диагнозом НАЖБП. Диагноз был верифицирован гистологическим методом (стеатоз в более 5 % гепатоцитов), по результатам теста ФиброМакс и эластометрии. В данной группе исследовалась распространенность патологических аллелей генов *PNPLA3*, *SERPINA1* и *HFE* для оценки их влияния на развитие и прогрессию заболевания. Точечные замены определялись с использованием метода ПЦР в реальном времени («ТестГен», Россия).

Данные о распространенности *PNPLA3* являются сопоставимыми с другими исследованиями, проводимыми среди пациентов с НАЖБП европейского, латиноамериканского и монголоидного происхождения (Kantartziset, 2009; Valenti, 2010; Peng, 2012). Полученные результаты говорят о большей распространенности мутантной аллели среди больных НАЖБП по сравнению со здоровой популяцией, что может указывать на участие мутации в формировании стеатоза гепатоцитов. Дальнейшего изучения требует взаимосвязь гомозиготного и гетерозиготного носитель-

ства H148M со скоростью прогрессии НАЖБП у пациентов данной группы.

Результаты исследования распространенности генетических aberrаций в гене *SERPINA1* говорят о большей частоте встречаемости мутантной аллели среди больных НАЖБП по сравнению с общей популяцией, в том числе по данным исследований, приводимых в России [64]. Это, с одной стороны, может говорить о важной роли гена *SERPINA1* в жировом обмене гепатоцитов, а с другой – о гиподиагностике дефицита α 1-антитрипсина, который в клинической практике принимают за НАЖБП. Также требует дальнейшего изучения вероятное влияние патологии гена *SERPINA1* на скорость прогрессии заболевания.

Данные о распространенности мутаций в гене *HFE* сопоставимы с частотой их встречаемости в здоровой популяции, что в совокупности с данными других авторов может говорить о преимущественном влиянии нарушений гена на течение уже имеющегося стеатоза печени. Однако требует дальнейшего исследования взаимосвязь носительства мутантных аллелей гена *HFE* и скорости формирования более продвинутых морфологических стадий НАЖБП.

Заключение

Неалкогольная жировая болезнь печени – одна из наиболее частых патологий печени в развитых странах, и ее распространенность продолжает расти. Ключевым моментом, когда течение болезни становится неблагоприятным и угрожает развитием цирроза и ГЦК, является переход простого неалкогольного стеатоза в стеатогепатит. Эту метаморфозу сложно спрогнозировать для конкретного пациента, но исследуется

целых ряд маркеров, способных предсказать переход болезни в более агрессивную стадию. На данный момент наиболее перспективными методами представляются молекулярно-генетические.

Первым геном, для которого накопилась наиболее прочная доказательная база, является *PNPLA3* и его полиморфизм I148M. В отношении его установлена связь с формированием НАЖБП, повышением уровня печеночных трансаминаз, более выраженным накоплением липидов в печени, более быстрым формированием фиброза, а также повышенным риском развития ГЦК. Второй ген, внесенный в рекомендации по диагностике и лечению НАЖБП [65], *TM6SF2* и его полиморфизм E 167K, также повышает вероятность развития заболевания, предрасполагает к повышенному накоплению липидов в печени, цитолитическому синдрому, развитию фиброза и цирроза. Исследование изменений в генах *SERPINA1* и *HFE* может быть полезным при дифференциальной диагностике НАЖБП с дефицитом $\alpha 1$ -антитрипсина и наследственным гемохроматозом. Кроме того, наличие Z-аллели гена *SERPINA1* также способно отягощать течение неалкогольного гепатоза и способствовать более скорому его переходу в стеатогепатит.

Таким образом, молекулярно-генетическое исследование на наличие полиморфизмов в генах *PNPLA3*, *TM6SF2*, *SERPINA1* и *HFE* может быть рекомендовано всем пациентам с НАЖБП для формирования более точного прогноза течения заболевания.

Список литературы

1. Zezos P., and E.L. Renner. 2014. Liver transplantation and non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology* 20: 15532–15538.
2. Younossi Z.M., Stepanova M., Afendy M., Fang Y., Younossi Y., Mir H., Shishor M. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2011, 9, 524–530.
3. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Aug, 34 (3): 274–85.
4. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver versus nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015, 13: 643–654.
5. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2004, 40: 578–84.
6. А. С. Тихомирова, В. А. Кисляков, И. Е. Байкова, И. Г. Никитин. Клинико-морфологические параллели полиморфизма гена *PNPLA3* у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени. *Терапевтический архив.* 2018, 85–88.
7. Ercin, C.N., T. Dogru, H. Genc et al. 2015. Insulin resistance but not visceral adiposity index is associated with liver fibrosis in nondiabetic subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 13: 319–325.
8. Kovalic AJ, Banerjee P, Tran QT, Singal AK, Satapathy SK. Genetic and Epigenetic Culprits in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol.* 2018 Dec, 8 (4): 390–402.
9. Danford CJ, Yao ZM, Jiang ZG. Non-alcoholic fatty liver disease: a narrative review of genetics. *J Biomed Res.* 2018 Nov 20; 32 (5): 389–400.
10. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in *PNPLA3* confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008 Dec 40 (12): 1461–5.
11. Pirazzi C, Valenti L, Motta BM, et al. *PNPLA3* has retinyl-palmitate lipase activity in human hepatic stellate cells. *Hum Mol Genet.* 2014; 23 (15): 4077–4085.
12. Mitsche MA, Hobbs HH, Cohen JC (2018) Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 promotes transfer of essential fatty acids from triglycerides to phospholipids in hepatic lipid droplets. *J Biol Chem* 293 (18): 6958–6968.
13. Li JJ, Huang Y, Karaman R, Ivanova PT, Brown HA, Roddy T, Castro-Perez J, Cohen JC, Hobbs HH. Chronic overexpression of *PNPLA3*I148M in mouse liver causes hepatic steatosis. *J Clin Invest.* 2012 Nov; 122 (11): 4130–44.
14. Smagris E, BasuRay S, Li J et al (2015) *Pnpla3*I148M knockin mice accumulate *PNPLA3* on lipid droplets and develop hepatic steatosis. *Hepatology* 61 (1): 108–118.
15. Lindén D, Ahnmark A, Pingitore P et al. *Pnpla3* silencing with antisense oligonucleotides ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in *Pnpla3* I148M knock-in mice. *Mol Metab.* 2019 Apr; 22: 49–61.
16. Xu R, Tao A, Zhang S, Deng Y, Chen G. Association between patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (*PNPLA3*) polymorphisms and nonalcoholic fatty liver disease: a HuGE review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2015 Mar 20; 5: 9284.
17. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (*PNPLA3*) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2011 Jun, 53 (6): 1883–94.
18. Krawczyk M., Rau, M., Schattnerberg et al. (2016). Combined effects of the *PNPLA3*rs738409, *TM6SF2*rs58542926, and *MBOAT7*rs641738 variants on NAFLD severity: a multicenter biopsy-based study. *Journal of Lipid Research*, 58 (1), 247–255.
19. Vespasiani-Gentilucci, U., Gallo, P., Porcari, A. et al. (2016). The *PNPLA3* rs738409 C > G polymorphism is associated with the risk of progression to cirrhosis in NAFLD patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 51 (8), 967–973.
20. Khlaiphuengsin A, Kiatbumrung R, Payungporn S, Pinjaroen N, Tangkijvanich P. Association of *PNPLA3* Polymorphism with Hepatocellular Carcinoma Development and Prognosis in Viral and Non-Viral Chronic Liver Diseases. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015, 16 (18): 83.
21. Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF. *PNPLA3* variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology.* 2010 Sep, 52 (3): 904–12.
22. Kozlitina J, Smagris E, Stender S et al. Exome-wide association study identifies a *TM6SF2* variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2014 Apr; 46 (4): 352–6.
23. Ehrhardt N, Doche ME, Chen S et al. Hepatic *TM6SF2* overexpression affects cellular ApoB-trafficking, plasma lipid levels, hepatic steatosis and atherosclerosis. *Hum Mol Genet.* 2017 Jul 15, 26 (14): 2719–2731.
24. E.A. O'Hare, R. Yang, L.M. Yerges-Armstrong, U. Sreenivasan, R. McFarland, C. C. Leitch, et al., *TM6SF2* rs58542926 impacts lipid processing in liver and small intestine. *Hepatology* 65 (5) (2017) 1526–1542.
25. Chen LZ, Xia HH, Xin YN, Lin ZH, Xuan SY. *TM6SF2* E 167K variant, a novel genetic susceptibility variant, contributing to nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Transl Hepatol* 2015; 3: 265–270.
26. Ruhanen H, Nidhina Haridas PA, Eskelinen EL, Eriksson O, Olkkonen VM, Käkälä R. Depletion of *TM6SF2* disturbs membrane lipid composition and dynamics in HuH7 hepatoma cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2017 Jul, 1862 (7): 676–685.
27. Du S, Lu L, Miao Y, Jin W, Li C, Xin Y, Xuan S. E 167K polymorphism of *TM6SF2* gene affects cell cycle of hepatocellular carcinoma cell HEPA 1–6. *Lipids Health Dis.* 2017 Apr 13, 16 (1): 76.
28. Mahdessian H, Taxiarchis A, Popov S, et al. *TM6SF2* is a regulator of liver fat metabolism influencing triglyceride secretion and hepatic lipid droplet content. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014, 111: 8913–8918.
29. Smagris E, Gilyard S., BasuRay S., Cohen J.C. and Hobbs H.H. (2016) Inactivation of *TM6sf2*, a Gene Defective in Fatty Liver Disease, Impairs Lipidation but Not Secretion of Very Low Density Lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, 291, 10659–10676.
30. Di Costanzo A, Belardinelli F, Bailetti D et al. Evaluation of Polygenic Determinants of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) By a Candidate Genes Resequencing Strategy. *Sci Rep.* 2018 Feb 27; 8 (1): 3702.
31. Viitasalo A, Pihlajamäki J, Paananen J, Atalay M, Lindi V, Lakka TA. Associations of *TM6SF2* 167K allele with liver enzymes and lipid profile in children: the PANIC Study. *Pediatr Res* 2016, 79: 684–688.
32. Dongiovanni P, Petta S, Maglio C, Fracanzani AL, Pipitone R, Mozzi E. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology* 2015; 61: 506–514.
33. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, Leathart JB. *TM6SF2* rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun* 2014, 5: 4309.
34. Kim DS, Jackson AU, Li YK, Stringham HM, Kuusisto J, Kangas AJ. Novel association of *TM6SF2* rs58542926 genotype with increased serum tyrosine levels and decreased apoB-100 particles in Finns. *J Lipid Res* 2017; 58: 1471–1481.
35. Falletti E, Cussigh A, Cmet S, Fabris C, Toniutto P. *PNPLA3* rs738409 and *TM6SF2* rs58542926 variants increase the risk of hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis. *Dig Liver Dis* 2016; 48: 69–75.
36. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2011 Feb, 11 (2): 98–107.
37. Netea MG, Joosten LA, Lewis E et al. Deficiency of interleukin-18 in mice leads to hyperphagia, obesity and insulin resistance. *Nat Med.* 2006 Jun, 12 (6): 650–6.
38. Mansuy-Aubert V, Zhou QL, Xie X et al. Imbalance between neutrophil elastase and its inhibitor $\alpha 1$ -antitrypsin in obesity alters insulin sensitivity, inflammation, and energy expenditure. *Cell Metab.* 2013 Apr 2, 17 (4): 534–48.
39. ATS/ERS, American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with $\alpha 1$ -antitrypsin deficiency. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 168 (2003) 818–900.
40. Silva, D., Oliveira, M. J., Guimarães et al. (2016). Alpha-1-antitrypsin (*SERPINA1*) mutation spectrum: Three novel variants and haplotype characterization of rare deficiency alleles identified in Portugal. *Respiratory Medicine*, 116, 8–18.

41. Toldo S, Seropian IM, Mezzaroma E, Van Tassel BW, Salloum FN, Lewis EC, Voelkel N, Dinarello CA, Abbate A. Alpha-1 antitrypsin inhibits caspase-1 and protects from acute myocardial ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2011 Aug; 51 (2): 244–51.
42. Greene CM, Marciniak SJ, Teckman J, Ferrarotti I, Brantly ML, Lomas DA, Stoller JK, et al. alpha1-Antitrypsin deficiency. *Nat Rev Dis Primers* 2016 и 2: 16051.
43. de Serres FJ. Worldwide racial and ethnic distribution of alpha1-antitrypsin deficiency: summary of an analysis of published genetic epidemiologic surveys. *Chest.* 2002 Nov; 122 (5): 1818–29.
44. Hamesch K, Mandorfer M, Pereira VM et al. European Alpha1-Liver Study Group. Liver Fibrosis and Metabolic Alterations in Adults With alpha-1-antitrypsin Deficiency Caused by the Pi*ZZ Mutation. *Gastroenterology.* 2019 Sep; 157 (3): 705–719.
45. Regev A, Guequeta C, Molina EG et al. Does the heterozygous state of alpha-1 antitrypsin deficiency have a role in chronic liver diseases? Interim results of a large case-control study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006 Jul; 43 Suppl 1: S30–5.
46. Valenti L, Dongiovanni P, Piperno A et al. Alpha 1-antitrypsin mutations in NAFLD: high prevalence and association with altered iron metabolism but not with liver damage. *Hepatology.* 2006 Oct; 44 (4): 857–64.
47. Strnad P, Buch S, Hamesch K et al. Heterozygous carriage of the alpha1-antitrypsin Pi*Z variant increases the risk to develop liver cirrhosis. *Gut.* 2019 Jun; 68 (6): 1099–1107.
48. El-Rayah EA, Twomey PJ, Wallace EM et al. Both alpha-1-antitrypsin Z phenotypes and low caeruloplasmin levels are over-represented in alcohol and nonalcoholic fatty liver disease cirrhotic patients undergoing liver transplant in Ireland. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018 Apr; 30 (4): 364–367.
49. Valenti L, Dongiovanni P, Fracanzani AL, et al. Increased susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in heterozygotes for the mutation responsible for hereditary hemochromatosis. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 172–178.
50. Dongiovanni P, Valenti L, Ludovica Fracanzani A, et al. Iron depletion by deferoxamine up-regulates glucose uptake and insulin signaling in hepatoma cells and in rat liver. *Am J Pathol* 2008, 172: 738–747.
51. Valenti L, Fracanzani AL, Dongiovanni P, et al. Iron depletion by phlebotomy improves insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease and hyperferritinemia: evidence from a case-control study. *Am J Gastroenterol* 2007, 102: 1251–1258.
52. Facchini FS, Hua NW, Stoohs RA. Effect of iron depletion in carbohydrate-intolerant patients with clinical evidence of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002, 122: 931–939.
53. Bacon B. R., P. C. Adams, K. V. Kowdley, L. W. Powell, and A. S. Tavill. 2011. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 54: 328–343.
54. Fleming R. E., and P. Ponka. 2012. Iron overload in human disease. *N. Engl. J. Med.* 366: 348–359.
55. Chua A. C., R. M. Graham, D. Trinder, and J. K. Olynyk. 2007. The regulation of cellular iron metabolism. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 44: 413–459.
56. Cabantchik ZI. Labile iron in cells and body fluids: physiology, pathology, and pharmacology. *Front Pharmacol* 2014, 45, 5.
57. Pietrangelo A. Metals, oxidative stress, and hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1996, 13–30, 16.
58. Tan TC, Crawford DH, Jaskowski LA et al. Altered lipid metabolism in Hfe-knockout mice promotes severe NAFLD and early fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011 Nov, 301 (5): G865–76.
59. Wagner J, Fillebeen C, Halliotis T, Charlebois E, Katsarou A, Mui J, Valli H, Pantopoulos K. Mouse models of hereditary hemochromatosis do not develop early liver fibrosis in response to a high fat diet. *PLoS One.* 2019 Aug 23; 14 (8): e0221455.
60. Hanson EH, Imperatore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Human Genome Epidemiology.* *Am J Epidemiol.* 2001 Aug 1; 154 (3): 193–206.
61. Ye Q, Qian BX, Yin WL, Wang FM, Han T. Association between the HFE C282Y, H63D Polymorphisms and the Risks of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of 5,758 Cases and 14,741 Controls. *PLoS One.* 2016 Sep 22; 11 (9): e0163423.
62. Raszeja-Wyszomirska J, Kurzawski G, Lawniczak M, Miezynska-Kurtycz J, Lubinski J. Nonalcoholic fatty liver disease and HFE gene mutations: a Polish study. *World J Gastroenterol.* 2010 May 28; 16 (20): 2531–6.
63. Hemaerz R, Yeung E, Clark JM, Kowdley KV, Brancati FL, Kao WH. Hemochromatosis gene and nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2011 Nov; 55 (5): 1079–85.
64. Первакова МЮ, Чудинов АЛ, Лапин СВ и др. Диагностическая и клиническая значимость определения фенотипа α-1-антитрипсина при системных васкулитах. Научно-практическая ревматология. 2017; 55 (2): 164–168.
65. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016 Jun; 64 (6): 1388–402.

Для цитирования: Сидоренко Д.В., Назаров В.Д., Лапин С.В., Эмануэль В.А. Роль молекулярно-генетических факторов в патогенезе и диагностике неалкогольной жировой болезни печени (обзор литературы и собственные данные). Медицинский алфавит. 2020;(5):13–19. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-13-19>

For citation: Sidorenko D.V., Nazarov V.D., Lapin S.V., Emanuel V.L. Role of molecular genetic factors in pathogenesis and diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (literature review and own data). *Medical alphabet.* 2020; (5):13–19. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-13-19>



DOI: 10.33667/2078-5631-2020-5-19-24

Орфанный рецептор ROR1 для детекции минимальной остаточной болезни при хроническом лимфолейкозе

Ю.В. Миролюбова, врач клинической лабораторной диагностики, ассистент кафедры лабораторной медицины и генетики
Н.С. Тимофеева, врач-гематолог
В.А. Барт, к.ф.-м.н., в.н.с. НИЛ биостатистики
Е.В. Толстомятова, врач клинической лабораторной диагностики
Е.С. Фетисов, врач клинической лабораторной диагностики
В.В. Стругов, врач-гематолог
В.М. Соловьев, клинический ординатор кафедры лабораторной медицины и генетики
А.Ю. Зарицкий, д.м.н. проф., директор института гематологии, г.н.с. НИЛ онкогематологии
Т.В. Вавилова, д.м.н. проф., зав. кафедрой лабораторной медицины и генетики

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Orphan receptor ROR1 for detection of minimal residual disease in chronic lymphocytic leukemia

Yu. V. Mirolyubova, N. S. Timofeeva, V. A. Bart, V. M. Solovyov, E. V. Tolstopyatova, E. S. Fetisov, V. V. Strugov, A. Yu. Zaritsky, T. V. Vavilova
 National Medical Research Centre n.a. V. A. Almazov, Saint Petersburg, Russia