

Михальчишин Г.П.

НЕАЛКОГОЛЬНА ЖИРОВА ХВОРОБА ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТИПУ 2

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Резюме. В огляді літератури приведені патогенетичні зв'язки цукрового діабету типу 2, метаболічного синдрому і роль в цьому процесі неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП). Власні дослідження пропонують пріоритетну методику діагностики НАЖХП за допомогою ультразвукової еластографії хвилі зсуву.

Ключові слова: цукровий діабет типу 2, неалкогольна жирова хвороба печінки, стеатогепатоз.

Цукровий діабет (ЦД) є глобальною проблемою. Його відносять до 4-х найбільш поширених захворювань людини – хвороби серця, рак, діабет і психічні розлади (Генеральний директор ВООЗ Маргарет Чен, 2008) [1]. Поширеність ЦД в промислово розвинутих країнах складає 4–5% всього населення. Загальна кількість хворих на діабет у світі у 2010 році складала 150–220 млн, а згідно прогнозів у 2025 році їх буде понад 300 млн [2].

Відомо, що основною причиною ранньої інвалідизації та смертності є серцево-судинні ускладнення ЦД [3,4]. Серед хворих на діабет смертність від хвороб серця та інсульт спостерігається в 2–3 рази, сліпота – в 10 раз, нефропатія – в 12–15 раз, а гангрена нижніх кінцівок – в 20 раз частіше, ніж серед загальної популяції [5].

За результатами дослідження CODE-2 витрати на цукрознижувальні препарати в Європі складають 29 млрд євро, а наявність при цьому мікрота макросудинних ускладнень збільшує витрати на лікування діабету більш ніж у тричі [5,6].

Важливо підкреслити, що 21 грудня 2006 року на 61-й сесії Генеральної Асамблеї ООН була прийнята резолюція по ЦД, в якій зазначається: "Цукровий діабет набув рис неінфекційної епідемії і є четвертим захворюванням після ВІЛ-інфекції, туберкульозу та малярії і став реальною загрозою для здоров'я людства" [7].

Епідеміологічними детермінантами ЦД типу 2 є генетичні, демографічні (стать, вік, етнічні особливості), поведінкові (ожиріння, гіподинамія, дієта, стрес, урбанізація), метаболічні фактори (порушена толерантність до глюкози, інсулінорезистентність) та фактори, пов'язані з вагітністю [8,9]. Американська діабетична асоціація (2006) висунула велику кількість факторів ризику ЦД типу 2: надмірна маса тіла (індекс маси тіла (ІМТ) $\geq 25 \text{ кг/м}^2$), гіподинамія,

расові (етнічні) особливості, раніше виявлені порушена глікемія натще або тест толерантності до глюкози, артеріальна гіпертензія (АГ) ($\geq 140/90$ мм рт. ст.) у дорослих, холестерин ЛПВГ $< 0,90$ ммоль/л, тригліцериди $\geq 2,82$ ммоль/л, гестаційний діабет в анамнезі або вага новонародженого $> 4,1$ кг та синдром полікістозних яєчників.

Центральною ланкою патогенезу ЦД типу 2 є інсулінорезистентність (ІР) [10]. ІР – це стан організму, який супроводжується зниженням утилізації глюкози тканинами під впливом інсуліну. Однак, при ІР порушується не тільки обмін вуглеводів, але й змінюється метаболізм жирів, білків, функція клітин, життєдіяльність генів [11]. ІР у людей розвивається внаслідок генетичних та набутих чинників. Вона зустрічається у 25 % практично здорових людей і є основою метаболічного синдрому [12]. Доведено, що ІР притаманна ЦД типу 2 у 84% хворих, порушеній толерантності до глюкози – у 66%, гіперхолестеринемії – у 54%, гіпертригліцеридемії – у 88%, зниженні рівня ЛПНГ – 88 %, гіперурікемії – 63 %, гіпертензії – 58 % [13].

Витоки ЦД типу 2 знаходяться в надрах метаболічного синдрому (МС) і для нього також характерні АГ, вісцеральне ожиріння, дисліпідемія, гіперурікемія, порушення гемостазу, ендотеліальна дисфункція, атерогенез [14]. Основні клінічні наслідки ІР наведені на мал. 1.

Клінічними проявами МС є ЦД типу 2, ожиріння, АГ, неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), полікістоз яєчників, захворювання серця та судин [16,17].

Існуючі уявлення про патогенез МС укладаються в рамки трьох теорій. Першою з них була глюкоцентрична. Наприкінці 80-х рр. минулого століття їй на зміну прийшла ліпоцентрична теорія. Нарешті, в даний час найбільш бурхливо

розвиваються дослідження в руслі ліпокінової теорії МС.

Згідно глюкоцентричної гіпотези, в основі розвитку МС лежить єдиний патологічний процес - ІР периферичних тканин, наслідком, якого є гіперінсулінемія. Саме з інсулінорезистентністю і супутньою їй гіперінсулінемією пов'язують всі метаболічні розлади, що спостерігаються при метаболічному синдромі.

Згідно двох інших гіпотез ключову роль у розвитку МС відіграє вісцеральна жирова тканина. Абдомінальне (андроїдне) ожиріння розглядається як "генератор" і один з основних кластерів МС. Паралельно сформувались дві школи з принципово іншими поглядами на роль вісцерального ожиріння в патогенезі МС [18].

Представники першої і більш старшої дотримуються "портальної гіпотези" (ліпоцентрична теорія), яка була висунута Bjorntorp P. [19]. В основі цієї теорії лежить надлишок вільних жирних кислот (ВЖК), який утворюється внаслідок підвищеної ліполітичної активності гіпертрофованих вісцеральних адипоцитів. Надлишок ВЖК знижує чутливість печінки і інших периферичних тканин до інсуліну за рахунок порушення пострецепторної трансдукції інсулінового сигналу.

Після виявлення ендокринної функції жирової тканини і особливо після відкриття гіпоталамо-ліпоцитарної нейроендокринної осі ліпоцентрична теорія патогенезу МС трансформувалася в ліпокінову теорію. З точки зору ліпокінової теорії, основні складові МС формує не стільки субстратно-енергетична роль продуктів ліпоцитів, скільки інформаційний вплив на організм ліпоцитарних сигнальних молекул [18].

Жирова тканина є основним енергетичним депо в організмі. З усієї енергії, що надходить в організм з їжею, близько 75% витрачається на підтримання основного обміну, близько 10–15% від її кількості використовується на різні види фізичної активності і 10–15% – на підтримку постійного термогенезу.

Протягом тривалого періоду вважали, що жирова тканина є лише інертним енергетичним депо. На сьогодні жирова тканина – це активний ендокринний орган, який виконує ряд ендокринних, паракринних і аутокринних функцій і в якій синтезується значна кількість гормонів і біологічно активних пептидів, до яких відносяться лептин, пантофізин, резистин, фактор некрозу пухлин – бета (TNF-β), адипонектин, вісфатин, внутрішньоадипоцитарні альтернативні білки (адипсин, С3, В), внутрішньоадипоцитарний білок 30 kD (ACRP30), білок, що стимулює ацетилювання (ASP), ліпопротеїнова ліпаза (LPL), білок, який переносить ефіри холестерину (СЕТР), аполіпопротеїн Е (Аро Е), ретинолз'язувальний протеїн-4 (RBP-4), судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), інтерлейкін-6, ангіотензиноген, інгібітор активатора плазміногену 1 типу (PAI-1), трансформуючий фактор росту-бета (TGF-β), фактор росту гепатоцитів, інсуліноподібний фактор росту-1 (IGF-1), монобутирин, білки 1, 2 і 3 типу, що роз'єднують окисне фосфорилування, простагліцин (Pgl2), білки гострої фази (гаптоглобін, альфа1-кислий глікопротеїн), білки позаклітинного матриксу (колаген 1, 3, 4 і 6 типу, фібронектин, остеоонектин, ламінін, матриксні металопротеїнази 2 і 9 типу), естрогени (p450-ароматаза конвертує анд-



Мал. 1. Основні клінічні наслідки ІР (О.С. Аметов, 2011) [15]

ростендіон в естрон), 17-бета-гідроксистероїдна оксидоредуктаза, *agouti* сигнальний білок та інші [20]. У людини основною структурною одиницею жирової тканини є високоспеціалізовані клітини – адипоцити [21].

Абдомінальний жир складається з різних анатомічних компонентів: підшкірної жирової тканини (ПШЖТ), яка містить поверхневі та глибокі прошарки, що розділені поверхневою фасцією і внутрішньоабдомінальної жирової тканини, розташованої інтра- та ретроперитонеально. Вісцеральна жирова тканина (ВЖТ) включає мезентеріальні депозити та сальник. На неї припадає 10–20% від загального числа жиру у чоловіків і 5–10% у жінок [22].

У людей з нормальною масою тіла адипоцити ВЖТ менші за розміром ніж адипоцити ПШЖТ як у чоловіків так і жінок. Дана пропорція також зберігається у жінок з ожирінням проте нівелюється у чоловіків. ВЖТ окрім зрілих адипоцитів, на відміну від ПШЖТ, містить надзвичайно гетерогенну популяцію клітин, які є представниками стромально-судинної фракції жирової тканини (преадипоцити, ендотеліальні клітини, фібробласти, мастоцити, моноцити/макрофаги, клітини-попередники кістково-мозкового походження, лейкоцити та гранулоцити). ВЖТ багатша на макрофаги чим ПШЖТ [23,24].

ВЖТ містить більше преадипоцитів [25]. Проліферативна і реплікативна активність, їх здатність до диференціації обумовлюють специфічність накопичення ліпідів. Так в недавньому дослідженні *in vitro* показано, що у преадипоцитів виділених із сальника здатність до реплікації нижча ніж у аналогічних клітин із ПШЖТ. Проліферативна активність знижується із віком піддослідної тварини в преадипоцитах із ПШЖТ та практично не змінюється в прогеніторах адипоцитів сальника. Проте здатність до диференціації залишається на однаковому рівні в двох групах клітин [26].

Метаболічна активність жирової тканини розрізняється залежно від розподілу її в організмі. Адипоцити ВЖТ мають багатшу іннервацію і кровопостачання.

Процес ліпогенезу залежить від транспорту глюкози всередину клітини та доставки вільних жирних кислот за рахунок активності ліпопротеїнової ліпази (ЛПЛ), яка знаходиться в ендотелії судин. Паралельно збільшенню розміру адипоцита активність ЛПЛ пропорційно зростає. Інсулін стимулює транспорт глюкози в адипоцитах та впливає на активність ЛПЛ, хоча, в ПШЖТ

цей вплив сильніший. Базальна та стимульована інсуліном активність транспорту глюкози більш інтенсивна в адипоцитах сальника чим в ПШЖТ, що також підтверджується підвищеною експресією мРНК GLUT-4. В одного і того ж пацієнта стимульована інсуліном активність транспорту глюкози в 2 рази більша в сальнику чим в ПШЖТ [27,28]. Активність поглинання вільних жирних кислот та рівень ацетил-КоА-синтетази, які впливають на синтез тригліцеридів, вищі в ВЖТ.

Процес ліпогенезу регулюється координованою експресією багатьох транскрипційних факторів, серед яких найважливішими є SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c), PPAR α , - β/σ , - $\gamma1/\gamma2$ (peroxisome proliferator-activated receptors), C/EBP- α (CCAAT/enhancer-binding protein- α). В одному із досліджень спостерігалася знижена експресія мРНК SREBP-1c в адипоцитах сальника у порівнянні з ПШЖТ живота і стегна. Гендерних відмінностей відмічено не було. Експресія мРНК SREBP-1c була нижча у хворих з ожирінням і збільшувалася після зменшення маси [25].

Істотні відмінності в метаболічній активності ВЖТ від ПШЖТ проявляються в їх здатності модулювати відповідь на катехоламіни та антиліполітичну дію інсуліну. Ці гормони регулюють зворотне захоплення ВЖК та їх депонування в різних компонентах жирової тканини організму [29].

Швидкість ліполізу як *in vitro* так і *in vivo* залежить від активності ліпази адипоцитів та функціональної рівноваги між ліполітичними та антиліполітичними регуляторами. Базальна ліполітична активність нижча в адипоцитах ВЖТ ніж ПШЖТ як у здорових так і у людей з ожирінням.

Симпатична нервова система відіграє важливу роль у регуляції ліполізу і мобілізації ліпідів в організмі людини. Катехоламіни впливають одночасно на адипоцити і васкуляризацію жирової тканини, контролюючи локальний кровообіг. Крім того, вони модулюють секрецію антиліполітичного гормону інсуліну. У здорових людей катехоламіни мають більш потужний вплив на адипоцити ВЖТ [30].

У ВЖТ локалізовано більше $\beta2$ -адренорецепторів з високою активністю та спостерігається низька концентрація $\alpha2$ -адренорецепторів з нижчою активністю. В адипоцитах ПШЖТ переважають $\alpha2$ -адренорецептори. Важливо, що $\beta3$ -адренорецептори адипоцитів не регулюються катехоламінами за принципом зворотного зв'язку і

ліполіз в них активується лише при симпатикотонії [31].

З однієї сторони, висока ліполітична адренергічна активність адипоцитів ВЖТ і їх резистентність до антиліполітичної дії інсуліну зумовлюють надмірне надходження вільних жирних кислот у портальну систему печінки. З іншої, ВЖТ містить велику кількість імунореактивних клітин та преадипоцитів в стромально-судинній фракції, які за наявності ожиріння здатні секретувати різноманітні прозапальні цитокіни. Обидва фактори спричинюють розвиток гіперліпідемії, гіперінсулінемії, інсулінорезистентності й гіперглікемії [32].

Довгий час інтегральним змінам з боку печінки, які виникають при МС, порушенням ліпідного і вуглеводного обміну при патології печінки не надавалося особливого значення. У 2003 році Американською Асоціацією клінічних ендокринологів НАЖХП була визнана невід'ємним компонентом МС. Роботами вітчизняних і зарубіжних дослідників було показано, що порушення ліпідного обміну мають системний характер і в обов'язковому порядку супроводжуються порушенням функції печінки.

НАЖХП є неспецифічним, інтегральним і багатofакторним ураженням при ЦД 2 типу, ожирінні, ІР, МС, дисліпідемії та атеросклерозі. Вона проявляється стадійно: стеатозом печінки, стеатогепатитом, фіброзом та стеатогенним цирозом. НАЖХП зустрічається у 30–100 % хворих з ожирінням, 10–75 % хворих на ЦД 2 типу, 20–92% у пацієнтів з гіперліпідемією, а також у 10–24% практично здорових людей [33].

Патогенез НАЖХП тісно пов'язаний із синдромом ІР, внаслідок якого в печінці накопичуються тригліцериди (ТГ) і формується жировий гепатоз (ЖГ) – перший етап, або "поштовх" захворювання. У подальшому відбувається вивільнення з жирової тканини і синтез в гепатоцитах вільних жирних кислот (ВЖК), які сприяють виникненню окисного стресу, який є другим "поштовхом" захворювання і призводить до розвитку запально-деструктивних змін у печінці у вигляді стеатогепатиту, з подальшим прогресуванням до фіброзу при надмірному утворенні екстрацелюлярного матриксу [34,35].

Максимальний ризик розвитку НАЖХП відзначено в групі осіб з МС – це пацієнти з ЦД 2 типу, ожирінням, гіпертригліцеридемією. Частота виявлення НАЖХП у цих хворих, за даними різних досліджень варіює, від 70 до 100 %. У той же час, ознаки НАЖХП виявляються у 10–15 %

людей без клінічних проявів МС, що може бути обумовлено іншими патогенетичними механізмами формування НАЖХП: наприклад, синдромом надлишкової проліферації бактерій в кишечнику або дисбіозом, як це прийнято формулювати у вітчизняній літературі [36].

НАЖХП у хворих на ожиріння зустрічається в 4,6 разів частіше ніж у загальній популяції [37]. Тим не менш, патогенетичні механізми НАЖХП вивчення не повністю та потребують подальшого вивчення.

У 1980 р. Ludwig J. вперше описав зміни печінки печінки, подібні до картини при алкогольному гепатиті, в осіб, які не вживали гепатотоксичних доз алкоголю. Подальша розробка даної проблеми дозволила виявити тісний зв'язок НАЖХП з ожирінням, особливо вісцеральним.

Важливу роль в патогенезі НАЖХП відіграє надлишок ВЖК, які з'являються в крові в результаті вивільнення їх з адипоцитів за участю гормоночутливої ліпази та ЛПЛ на ендотелії капілярів легень, серця і ряду внутрішніх органів. Інсулінорезистентність не дозволяє інсуліну ефективно інгібувати ліполіз. Надлишок ВЖК знижує чутливість печінки і інших тканин до інсуліну у зв'язку з альтернативним окисненням та порушенням в пострецепторній передачі інсулінового сигналу. При надлишку ВЖК у гепатоцитах формується надлишок ацил-КоА та його похідних типу церамідів та фосфатидної кислоти. Похідні фосфатидної кислоти порушують роботу протеїнази С і пострецепторне фосфорилування тирозину в субстратах інсулінового рецептора IRS-I і IRS-II, особливо у носіїв їх мутантних алелів. Цераміди блокують роботу PkB/Akt сигнального шляху. На тваринних моделях ожиріння фармакологічне чи генетичне блокування зазначених шляхів чи зменшення утворення церамідів не призводить до розвитку ІР після споживання збагаченої ліпідами дієти [38,39].

Аберантна пострецепторна трансдукція інсулінового сигналу та резистентність до його дії периферичних тканин веде до накопичення тригліцеридів в гепатоцитах, що продемонстровано в дослідженнях, де спостерігався негативний корелятивний зв'язок між внутрішньопечінковим накопиченням жирів та чутливістю гепатоцитів до дії інсуліну під час еуглікемічно-гіперінсулінемічного клемпу [40].

Одним із шляхів утилізації ВЖК, що надходять у великій кількості в печінку при ліполізі абдомінального жиру є їх перетворення на глюкозу в процесі глюконеогенезу. В результаті печінка

секретує в кровотік надмірну кількість глюкози. Внаслідок цього розвивається гіперглікемія, результатом якої є сповільнення видалення інсуліну печінкою з кровотоку, що сприяє гіперінсулінемії.

За наявності ІР в печінці спостерігається зниження супресивного ефекту інсуліну на глюконеогенез, що веде до гіперглікемії натще, проте зберігається стимульований інсуліном супресивний ефект на β -окислення ВЖК в мітохондріях. Активація субстрату інсулінового рецептора IRS-2 веде до активації PkV/Akt, яка в свою чергу фосфорилує транскрипційний фактор Foxo1, що веде до його виключення та транскрипційного пригнічення генів, які контролюють процес глюконеогенезу (ФЕП-карбоксикази, глюкозо-6-фосфатази (Г-6-Ф) [41]. На відміну від цього, інгібування β -окислення ВЖК в печінці опосередковується Foxa2, який інактивується фосфорилуванням PkV/Akt, через активацію IRS-1 і IRS-2. На моделі мишей з ІР та гіперінсулінемією, спостерігається пригнічення транскрипційної активності Foxo1, в той час як фосфорилування Foxa2 зберігається. Таким чином, стійке пригнічення β -окислення жирних кислот обумовлене фосфорилуванням Foxa2 через одночасну активацію IRS-1 і IRS-2 за умов ІР веде до накопичення ліпідів і розвитку стеатозу печінки [42]. Транслокація мутантного алеля Foxa2, який не чутливий до інсулін-залежного фосфорилування у гепатоцитах мишей з діабетом, викликає регрес стеатозу печінки і зменшення ІР.

Синтез жирних кислот у печінці активується і регулюється незалежно один від одного інсуліном та глюкозою. Інсулін здатний активувати ліпогенез за допомогою мембранних факторів транскрипції, до яких належить SREBP-1c – білок, що зв'язується з елементом, який регулюється стеролом. Цей фактор активує транскрипцію всіх генів, залучених в процес ліпогенезу. Так у мишей з нокаутним геном SREBP-1 (-/-), яких виводили дієтою з високим вмістом вуглеводів, спостерігалось виражене пригнічення активності ферментів, необхідних для синтезу ВЖК - АСС (ацетил-КоА карбоксилази) та SCD (стеароїл-КоА десатурази), а також повне блокування генної транскрипції ферментів ліпогенезу – гліцерол-3-фосфат ацилтрансферази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [43]. Підвищений рівень експресії SREBP-1c в жировій тканині експериментальних тварин індукував гіпертрофію адипоцитів, підвищене вивільнення з них ВЖК і як наслідок призводив до розвитку класичного стеа-

тогепатозу [44]. І навпаки, блокування SREBP-1c харчовими добавками збагаченими поліненасиченими жирними кислотами вело до підвищення β -окислення ліпідів і зниження ліпогенезу [45].

Ліпогенез в печінці стимулюється також глюкозою через вторинний транскрипційний фактор – ChREBP-білок, що відповідає за зв'язування з глюкозою (ChREBP). ChREBP регулює експресію ключових генів гліколізу – піруваткінази печінкового типу (ППК), синтезу ЖК – АСС та синтетази жирних кислот (FAS), глюконеогенезу – глюкозо-6-фосфатази (Г-6-Ф). Глюкоза активує ChREBP, регулює його вхід в ядро з цитоплазми, стимулюючи зв'язування ChREBP з E-блоком фрагменту в промоторі ППК – ключового ферменту гліколізу. ППК каталізує перетворення фосфоенолпірувату в піруват, який надходить у цикл Кребса (ЦК), де перетворюється в цитрат – джерело ацетил-КоА, який використовується для синтезу ЖК [46,47]. Перетворення глюкози в ЖК відбувається за умови надлишку енергії. У той же час інактивація ChREBP знижує розвиток стеатогепатозу при інсулінорезистентності. Надмірна стимуляція ліпогенезу ChREBP індукується при гіперглікемії. У мишей з нокаутним геном ChREBP (ChREBP-/-) спостерігається фенотип, при якому рівень печінкового ліпогенезу з глюкози на 65% нижчий ніж у дикого типу тварин, менша маса ВЖТ, а також пригнічена експресія мРНК ключових ферментів гліколізу та ліпогенезу в печінці. Проте, в таких мишей активується Г-6-Ф, яка в свою чергу стимулює глікогенсинтетазу та синтез глікогену, що веде до гепатомегалії та надмірного накопичення глікогену в печінці [48,49].

SREBP-1c та ChREBP стимулюють утворення малоніл-КоА, який є інгібітором мітохондріального β -окислення [50].

LXR (liver X receptor) є ще одним важливим регулятором ліпідного обміну. Активація даного транскрипційного фактору викликає підвищення синтезу жирних кислот та ЛПДНЩ в печінці [51], а також сприяє розвитку стеатогепатозу в мишей. Даний ефект, на думку авторів, обумовлений регулюванням LXR активації SREBP-1c і ChREBP [52].

LXR є одним з потенційних факторів, який відіграє роль в прогресуванні стеатозу в некроз гепатоцитів. Wang et. al. продемонстрував, що активація LXR пригнічує ЛПС-індуковану продукцію TNF- α і PGE2 дозозалежним шляхом і пригнічує активацію клітин Купфера тим самим проявляючи протекторний ефект [53]. За даними Chawla A. et al. активація LXR через PPAR- γ приз-

водить до зменшення фібротичних змін в печінці [54]. В експерименті *in vitro* Tsukamoto H. et al. спостерігав індукування трансформації зірчастих клітин Іто в міофібробласти шляхом зниження активності PPAR- γ [55].

Важлива роль у процесі ліпогенезу відводиться PPARs. Фактор транскрипції PPARs бере участь у процесах метаболізму ліпідів, глюкози, запаленні і пухлинному рості. PPARs відіграють ключову роль в диференціації адипоцитів і модуляції інсулінорезистентності периферичних тканин. PPARs входять до суперсімейства ядерних гормональних рецепторів, які регулюють експресію багатьох генів. Кожен з PPARs утворюють гетеродимери з іншим ядерним рецептором RXR (retinoid X receptor), які зв'язуються PPREs (peroxisome proliferator response elements), які знаходяться в регуляторних доменах генів-мішеней. Активація специфічними лігандами PPARs веде до ремоделювання хроматину та активації транскрипції відповідних генів [56].

Розрізняють три ізоформи PPARs: альфа, бета / дельта, гама. Всі три типи рецепторів зв'язуються і активуються ВЖК. ЖК мають спорідненість до всіх трьох відомих підтипів PPAR. PPARs управляють транскрипцією значної кількості генів, в тому числі кодують мітохондріальні, пероксисомальні і деякі мікросомальні ферменти метаболізму ЖК у печінці. Крім цього, PPARs контролюють гени, що відповідають за транспорт і поглинання ЖК: синтез і секрецію FATP - білка, що зв'язує і транспортує ВЖК, FAT/CD36. PPARs також модулюють метаболізм ліпопротеїдів збагачених ТГ, активуючи ген ліпопротеїналіпази і інгібуючи синтез АПОС-III, I, сприяє утворенню апоAI і апоAIV [57].

PPAR- α широко представлені в печінці, серці, скелетних м'язах і ендотелії судин. Їхня активація призводить до експресії генів карнітин-пальмітинової трансферази 1 та 2 типу (CPT1, 2) і як наслідок підвищеного захоплення гепатоцитами ліпідів з подальшим окисленням їх метаболітів в мітохондріях. CPT1 є основним лімітуючим ферментом який регулює мітохондріальне β -окислення довголанцюгових жирних кислот, які поступають через зовнішню мембрану в мітохондріальний матрикс. Блокування CPT1 ендогенним інгібітором малоніл-КоА або селективним антагоністом етоксіміром – призводить до розвитку стеатогепатозу та стеатогепатиту [58]. Для фенотипу мишей з нокаутованим геном PPAR- α характерна гіпоглікемія натще, гіпокетонемія, гіпертригліцеридемія та стеатогепатоз [59].

Вигодовування експериментальних мишей метіонін- і холін-дефіцитною (МХД) дієтою викликає виражений стеатогепатит з прогресуванням у фіброз, який за гістологічною картиною практично ідентичний до відповідного патологічного процесу у людини. Саме тому даний підхід використовується як експериментальна модель неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ), хоча має певні недоліки - виражене зниження маси тіла і рівня тригліцеридів в плазмі. У мишей з нокаутованим геном PPAR α , яких вигодовували МХД дієтою спостерігався більш виражений стеатоз і стеатогепатит. Лікування мишей агоністом PPAR α захищав тварин від МХД-індукованого стеатогепатиту та стеатозу, шляхом зниження накопичення в печінці тригліцеридів та продуктів перикисного окислення ліпідів [60]. Також агоніст PPAR α проявляв терапевтичний ефект - зменшуючи зону ураження, викликаючи регрес фіброзу та зниження експресії профібротичних маркерів, а також скорочення числа зірчастих клітин у мишей з індукованим НАСГ [61].

Роль PPAR α в патогенезі НАЖХП також продемонстрована на іншій експериментальній моделі даного патологічного стану – APOE2KI. У мишей з заміною видоспецифічного гену APOE на людський алель APOE2 (APOE2 knock-in) розвивалася дисліпідемія, атеросклероз та НАСГ при вигодовуванні їх дієтою із збагаченим вмістом вуглеводів ("західна дієта"). Після активації PPAR α фенофібратом у мишей лінії APOE2KI спостерігався протекторний ефект відносно розвитку НАСГ за рахунок зменшення накопичення тригліцеридів в паренхімі печінки та її інфільтрації макрофагами [62].

PPAR- α володіє протизапальною активністю, що може бути іншим потенційним механізмом, який бере участь в розвитку НАЖХП. Delerive P. et al. показали, що PPAR- α активує експресію гена інгібітора NF- κ B-сигнального шляху I κ B α , а також пригнічує транслокацію NF- κ B в ядро конкурентно взаємодіючи з p65 і знижує його афінність до ДНК [63]. Таким чином пригнічуючи продукцію прозапальних цитокінів, шляхом інгібування NF- κ B, PPAR- α виступає в ролі негативного регулятора запальної відповіді і тим самим відіграє роль в прогресуванні стеатозу в стеатогепатит.

Значення активації PPAR- α в прогресуванні різних стадій НАЖХП вивчалась в ряді клінічних досліджень. Так у 16 пацієнтів з підтвердженою біопсією НАЖХП після 48 тижнів лікування фенофібратом спостерігалось зниження рівня АСТ і

АЛТ в плазмі крові. Гістологічна оцінка показала зниження балонної дистрофії, проте покращення вираженості стеатозу, запальної інфільтрації або зони фіброзу не спостерігалось [64]. В іншому проспективному дослідженні у 46 хворих з гістологічно підтвердженим діагнозом НАСГ, також спостерігалось зменшення рівня в плазмі АЛТ і АСТ після 4 тижнів лікування гемфіброзілом (600 мг/добу). На жаль гістологічного контролю в динаміці лікування не проводилось [65].

В популяційних генетичних дослідженнях, де вивчалась асоціація поліморфізму різних алельних варіантів гену, продемонстровано, що PPAR α val227ala асоційований з розвитком НАЖХП [66]. З іншої сторони алельний варіант PPAR α 162val, який асоційований з IP та дисліпидемією, не пов'язаний з важкістю стеатозу, запальної інфільтрації або фіброзу, підтверджених гістологічним дослідженням [67].

Для PPAR- α характерна убиквітарна експресія в тканинах, проте найбільша концентрація спостерігається в жировій тканині. PPAR- α відіграють ключову роль в диференціації та процесі акумуляції ліпідів в адипоциті, сприяють посиленню захоплення глюкози клітинами, підвищенню її окислення та зниженню інсулінорезистентності [68]. Локальний нокаут в жировій тканині гену PPAR- α призводить до гіпоцелюлярності та розвитку інсулінорезистентності в жировій тканині при нормальній чутливості до інсуліну м'язів [69,70].

Аденовірус-опосередкована гіперекспресія PPAR γ в печінці експериментальних тварин призводить до поліпшення стеатозу печінки, запалення та фіброзу. Попереднє лікування мишей розиглітазоном не призводило до МХД-індукованого НАСГ в експериментальних тварин [71]. Також у гетерозиготних PPAR α +/-дефіцитних мишей спостерігався більш виражений МХД-індукований НАСГ, а аденовірус-опосередкована гіперекспресія PPAR γ призводила до зменшення запальних змін та фіброзу [72].

Патогенетична роль PPAR γ в розвитку НАЖХП обумовлена наступними механізмами: їх активація збільшує чутливість жирової тканини та скелетних м'язів до інсуліну, що призводить до зниження притоку ВЖК до печінки [73]; збільшення рівня адипонектину, який покращує чутливість до інсуліну, а також безпосередньо впливає на внутрішньопечінкове накопичення тригліцеридів за рахунок підвищення активності PPAR α і окислення ВЖК [74,75]; експресія PPAR γ в стелатних клітинах призводить до зни-

ження їх транскрипційної активності, тим самим пригнічує їх активацію і проліферацію TGFB-1 [76,77]; експресуючись в клітинах Купфера PPAR γ проявляє протизапальну дію [78].

В ряді пілотних клінічних досліджень з використанням глітазонів в когортах хворих з ЦД та без нього з гістологічно підтвердженим НАСГ продемонстровано підвищення чутливості до інсуліну, зниження сироваткового рівня амінотрансфераз, зниження накопичення тригліцеридів в печінці, яке оцінювали за допомогою МРТ, а також незначне покращення запальної інфільтрації та фіброзу в динаміці лікування [79]. Гени PPAR- β рівномірно розподілені у всіх тканинах. У мишей з нокаутованим геном PPAR- β спостерігалось ожиріння при використанні дієти збагаченої жирами. При надмірній експресії даного гену або надмірній активації селективним лігандом GW501516 у мишей спостерігалась підвищена рухова активність (марафонні миші). Такі трансгенні миші були резистентні до індукованого дієтою ожиріння та інсулінорезистентності [80]. GW501516 сприяв втраті маси та зменшенню інсулінорезистентності у мишей навіть на висококалорійній дієті збагаченій жирами. В основі даного ефекту лежить підвищена експресія генів, які збільшують катаболізм ліпідів та мітохондріальне β -окислення в м'язах [81].

Лікування GW501516 зменшував накопичення тригліцеридів в печінці за рахунок поліпшення метаболізму ліпідів і перешкоджав запальним змінам та фіброгенезу в МХД-індукованому НАСГ [82]. Миші з нокаутованим геном PPAR β були більш чутливі до гепатотоксичних агентів та хімічних індукторів фіброгенезу, таких як азоксиметан та CCl $_4$. В порівнянні з контрольною групою ведення PPAR β -дефіцитним мишам CCl $_4$ індукував більш виражений некроз гепатоцитів, збільшення сироваткового рівня АЛТ, а також експресії генів прозапальних та фіброзних маркерів [83].

PPAR β високо експресуються в стелатних клітинах Іто під час їх активації. In vivo інкубація стелатних клітин шурів з агоністом PPAR β збільшував їх проліферацію і індукував підвищення експресії генів фіброзних маркерів [84]. Тим не менш, in vivo достовірність даних висновків ще належить уточнити, оскільки GW501516 проявляв тенденцію до зниження числа активованих стелатних клітин і зниження маркерів фіброгенезу [82,83].

В подвійному сліпому рандомізованому 2-тижневому дослідженні у практично здорових

людей з надмірною масою тіла продемонстровано, що лікування GW501516 призводило до зниження паттесерце в сироватці крові ТГ, ХС, ЛПНЩ, інсуліну, а також зниження вмісту жиру в печінці, виміряного за допомогою МРТ [85].

У рандомізованому, плацебо-контрольованому, подвійному сліпому дослідженні у 30 пацієнтів з надмірною масою тіла та дисліпідемією, лікування новим потенційним агоністом PPAR β - MBX-8025 протягом 8 тижнів вело до зниження ТГ, ХС, ЛПНЩ, апоВ-100, ВЖК, γ ГТП, лужної фосфатази, НОМА-IR і підвищення рівня ХС ЛПВЩ [86].

Печінка сьогодні розглядається як орган-мішень при ожирінні, особливо при вісцеральному. При наростанні ожиріння збільшується надходження в печінку ВЖК і розвивається стеатоз печінки [87]. Під час цього процесу відбуваються реакції окислення ВЖК і утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і реактивних форми кисню (РФК) – оксидативний стрес – теорія "другого поштовху". Теорія "другого поштовху" пояснює трансформацію стеатозу в стеатогепатит, у зв'язку з чим має більш важливе клінічне та прогностичне значення. Факторами, що викликають запалення, вважаються ліпотоксичність, порушення функції внутрішньоклітинних структур (мітохондрій, мікросом), а чинниками, що викликають загибель гепатоцитів і розвиток фіброзу – ПОЛ, РФК, цитокіни. Механізм трансформації стеатозу в стеатогепатит включає декілька патогенетичних ланок, які є ідентичними як при неалкогольному так і алкогольному ураженні печінки [88].

Під "ліпотоксичністю" розуміють клітинну дисфункцію, яка виникає внаслідок внутрішньоклітинного переантаження ліпідами. Даний термін вперше був запропонований Lee Y. et al., який виявив, що надлишок вільних жирних кислот, проявляє токсичний ефект на β -клітини підшлункової залози, порушуючи їх здатність синтезувати інсулін в достатній кількості [89]. Ці дані дозволили заповнити відсутню ланку між периферичною інсулінорезистентністю та розвитком ЦД2. Зокрема, було висунуто припущення, що надлишок ВЖК, який виникає при інсулінорезистентності призводить до порушення секреції інсуліну β -клітинами підшлункової залози, а також при імуногістохімічному дослідженні спостерігається апоптоз β -клітин острівців Лангерганса [90]. В подальшому концепція "ліпотоксичності" була трансформована на інші тканини, в тому числі скелетні м'язи, ендотелій судин, міокард і печінку. Сьогодні ліпотоксичному

ефекту ВЖК надається роль ключового фактора в розвитку та прогресуванні стеатозу печінки [91].

У міру накопичення ВЖК гепатоцит стає більш вразливим і чутливим до токсичних впливів. ВЖК, які надходять з кишечника чи синтезуються в печінці, беруть участь в утворенні ТГ, які в подальшому включаються до ЛПДНЩ. Частина ВЖК транспортується в мітохондрії, де бере участь в β -окисленні. Відбувається утворення відновлених коферментів НАД і ФАД, які беруть участь у перенесенні електронів на цитохромах мітохондріального дихального ланцюга. У результаті цього відбувається фосфорилування АДФ з утворенням АТФ. Певна частина електронів бере участь в синтезі РФК, які мають прямий цитотоксичний ефект і можуть провокувати загибель гепатоцитів і впливати на секрецію цитокінів мононуклеарними фагоцитами, які також потенціюють зазначені патологічні процеси [92].

Підсумовуючи дослідження *in vitro* з додаванням ВЖК до різних культур клітин, під ліпотоксичним ефектом розуміють наступні зміни в клітинному метаболізмі: активація стресового JNK-кіназного сигнального шляху; підвищення експресії генів прозапальних цитокінів; пригнічення β -окислення в мітохондріях і як наслідок підвищення оксидативного стресу та ПОЛ. Кінцевою ланкою в розвитку даного патологічного ланцюга є індукція апоптозу надлишком ВЖК, який Unger R.H. et al. охарактеризували як ліпоапоптоз [93]. Так насичені жирні кислоти, стимулюють експресію проапоптичного гена Bim, який ініціює апоптоз, викликаючи вивільнення цитохрому c з наступною активацією каспаз 3 і 7 [91].

Мітохондрії є одним із основних клітинних джерел АФК. Мітохондріальні дисфункції призводять до порушення окислення жирних кислот та виступають пусковим фактором розвитку стеатозу, його переходом в стеатогепатит. Так у людей з генетичними дефектами в мітохондріальних ацил-КоА дегідрогеназах і у трансгенних експериментальних тварин з дефіцитом ферментів дихального ланцюга спостерігається важкий стеатогепатит як результат порушеного окислення жирних кислот [94,95].

За даними Perez-Carreras M. et al. у пацієнтів з НАСГ спостерігається зниження активності дихального ланцюга в мітохондріях в порівнянні із здоровими суб'єктами, а також пошкодження мітохондрій на ультраструктурному рівні у вигляді кристалічних включень в матриксі, наявності окисної дегенерації мітохондріальної ДНК

та модифікованих білків і збільшення розмірів органели аж до злиття в мегамітохондрії. Мітохондріальна дисфункція за даними авторів позитивно корелювала з інсулінорезистентністю, ІМТ та рівнем TNF- α в плазмі крові. [96].

Ще одним джерелом утворення АФК є активація мікросомальних монооксигеназ. Індукція CYP2E1 призводить до підвищеного виробництва АФК і відіграє ключову роль як в патогенезі НАЖХП так і алкогольного та токсичного гепатитів. В ряді робіт продемонстровано, що CYP2E1 активується такими молекулярними субстратами як жирні кислоти, кетони, етанол та ксенобіотики. У мишей з нокаутованим геном CYP2E1 розвивався стеатогепатоз з вираженою схильністю до перикисного окислення ліпідів [97,98].

Вільні радикали запускають реакції ПОЛ і секрецію прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-6, IL-8), хемокінів та підвищують експресію гепатоцитами молекул адгезії (ICAM-1, E-селектин, P-селектин), які забезпечують міграцію та інфільтрацію печінкової паренхіми поліморфноядерними лейкоцитами [99]. Ці патологічні реакції призводять до некрозу гепатоцитів і розвитку запальної клітинної інфільтрації. Продукти ПОЛ, некроз гепатоцитів, TNF- α , IL-6, IL-8 є активаторами зірчастих клітин Іто [100]. Клітини Іто - це перицити, які охоплюють шар клітин синусоїдів, що забезпечують контакт з синусоїдальним ендотелієм та гепатоцитами [101]. Також вони можуть виступати в ролі антигенпрезентуючих клітин та CD133+ клітин, які є попередниками у диференціюванні ендотеліальних клітин та гепатоцитів, що важливо для процесів регенерації і репарації печінки [102].

Репаративний процес включає в себе дві стадії: а) фазу регенерації, при якій пошкоджені клітини заміщуються клітинами такого ж типу, не залишаючи слідів патологічного процесу; б) фазу фіброзу, при якій паренхіматозна тканина заміщується сполучною. Будучи спочатку позитивним, процес загоєння стає патологічним в умовах значного безконтрольного ремодельовання екстрацелюлярного матрикса та формування рубцьової тканини [103,104].

Центральну роль у фіброгенезі відіграє трансформація клітин Іто в міофібробласти. З однієї сторони активовані зірчасті клітини залучаються до ендцитозу апоптотичних паренхіматозних клітин та беруть участь в регенерації печінки, стимулюючи рецептор нейротропіна P75 [105]. З іншого боку після активації зірчасті клітини втра-

чають велику кількість жирових крапель та ретиноїдів, в них спостерігається підвищена експресія десміну, гелсоліна і α -актину з наступною фенотиповою трансформацією в міофібробласти, які синтезують широкий спектр медіаторів, необхідних для розвитку фіброзу – матриксні металопротеїнази (MMPs), їх тканинні інгібітори (TIMPs), прозапальні цитокіни та ростові фактори: трансформуючий фактор росту β (TGF- β), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), інсуліноподібний фактор росту-1 (IGF-1), фактор росту фібробластів (FGF), фактор росту ендотелію судин (VEGF) [101,106].

Фіброз печінки і його кінцева стадія, цироз, становлять велику проблему для охорони здоров'я в світі. У країнах Західної Європи збільшення вживання алкоголю, розповсюдження ожиріння і ЦД призвели до того, що замість вірусних гепатитів на перше місце виходять фіброз і цироз печінки, що розвиваються внаслідок алкогольного і неалкогольного стеатогепатиту [107].

Короткостроковий прогноз при НАЖХП сприятливий. Довгостроковий прогноз залежить від гістологічних даних у момент дослідження. У 12–40% хворих з простим стеатозом протягом 8–13 років розвивається НАСГ з раннім фіброзом. Серед цих пацієнтів приблизно у 25% протягом такого ж періоду часу розвиваються цироз печінки або печінкова декомпенсація (15%), або прециротичні зміни (10%) [108]. У 7% хворих з компенсованим цирозом печінки внаслідок НАЖХП протягом 10 років розвивається гепатоцелюлярна карцинома (ГЦК), причому близько 50% з них потребують трансплантації печінки або вмирають внаслідок печінкових ускладнень [109]. Ризик розвитку ГЦК при цирозі внаслідок НАЖХП такий же як при алкогольному цирозі або цирозі внаслідок вірусного гепатиту С [110]. Цим можна частково пояснити дані, які недавно з'явилися про часту асоціацію ГЦК з підвищеним ІМТ або ЦД 2 типу [111].

У даний час близько 12% всіх трансплантацій печінки в США виконуються з приводу цирозу внаслідок НАЖХП [112]. Середня тривалість життя хворих з НАЖХП менше, ніж у популяції. Якщо в загальній популяції печінкова патологія є тільки 13-ою головною причиною смерті, то у пацієнтів з НАЖХП вона стоїть на 3-му місці [113].

Актуальною є сьогодні проблема ранньої діагностики НАЖХП починаючи з ранніх її стадій – стеатогепатозу.

Метою нашого дослідження було обґрунтування нового способу діагностики НАЖХП за допомогою ультразвукової еластографії методом хвилі зсуву (ЕХЗ). Для цього ми створили експериментальну модель НАЖХП на 20 статевозрілих щурах самках вагою 180–200 г. Експериментальні тварини протягом 8 тижнів знаходились на спеціальній дієті. Потім проводили морфологічні дослідження печінки.

В гепатоцитах експериментальних щурів морфологічними ознаками неалкогольного стеатогепатозу були наявність жирової дистрофії по типу дрібнокапельного стеатогепатозу та накопичення жирових вакуолей, які зміщували ядро клітини до периферії.

За допомогою методу ультразвукової ЕХЗ було виявлено значне підвищення жорсткості паренхіми печінки, що свідчить про наявність неал-

когольного стеатогепатозу. Зокрема, середні показники ультразвукової ЕХЗ в контрольній групі тварин (n=8) в правій і лівій частці печінки відповідно склали $4,64 \pm 1,27$ і $3,81 \pm 1,15$ кПа, а в експериментальній групі тварин (n=12) – $6,63 \pm 0,89$ і $6,28 \pm 0,75$ кПа ($p < 0,01$).

Результати дослідження довели можливість застосування методики ультразвукової ЕХЗ в якості неінвазивного маркера діагностики неалкогольного стеатогепатозу.

Матеріали статті доповідались на конференції Асоціації ендокринологів України "Сучасні методи діагностики та лікування цукрового діабету" (25.11.2011, м. Київ).

Подяка. Висловлюю щире вдячність проф. Т.В.Береговій та к.м.н О.Б.Диннику за участь в отриманні власних даних.

НЕАЛКОГОЛЬНАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИПА 2

Михальчишин Г.П.

Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца

Резюме. В обзоре литературы приведены патогенетические связи сахарного диабета типа 2, метаболического синдрома и роль в этом процессе неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Собственные исследования предлагают приоритетную методику диагностики НАЖБП с помощью ультразвуковой эластографии методом волны сдвига.

Ключевые слова: сахарный диабет типа 2, неалкогольная жировая болезнь печени, стеатогепатоз.

NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

Mykhalchyshyn G.P.

O.O. Bohomolets National Medical University

Abstract. In this article pathogenetic connection Diabetes Mellitus type 2, metabolic syndrome and role of this process in nonalcoholic fatty liver disease are shown. Own research recommended the method of ultrasony elastography as diagnostic method of nonalcoholic fatty liver disease.

Key words. Diabetes Mellitus type 2, nonalcoholic fatty liver disease, steatohepatosis.

Список літератури (113 джерел) в редакції.