

# Церамиды как фактор риска неалкогольной жировой болезни печени

Л.Л. Павловский, В.В. Чернявский

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев

Сегодня одним из факторов патогенеза неалкогольной жировой болезни печени, которые заслуживают особого внимания, является накопление специфических липидных подвидов в печени – церамидов. В статье освещены следующие вопросы: что же собой представляют церамиды, как они образуются, каким образом они влияют на апоптоз и развитие инсулинорезистентности.

**Ключевые слова:** неалкогольная жировая болезнь печени, церамиды, апоптоз, инсулинорезистентность.

Согласно современным представлениям, диагноз «неалкогольная жировая болезнь печени» (НАЖБП) включает ряд различных состояний, начиная от простого накопления жиров в печени («жирная печень», стеатоз; 90–95% случаев) и заканчивая неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ; 5–10% случаев). НАСГ в 38% прогрессирует в фиброз, в 30% – в цирроз и в 1–2% – в гепатоцеллюлярную карциному [9, 10].

Согласно данным сонографического исследования, распространенность НАЖБП во взрослой популяции колеблется в пределах от 17% до 46% (в зависимости от пола, возраста и этнической принадлежности) [1]. Результаты исследования NHANES III (Third National Health and Nutritional Examination Survey) показали, что среди пациентов с нормальной массой тела распространенность НАЖБП составляет около 16%, а среди больных с ожирением и сахарным диабетом (СД) этот показатель может достигать 76% [2–6].

Согласно рекомендациям Европейской Ассоциации по изучению печени 2016 года (European Association for the Study of the Liver – EASL), термином «неалкогольная болезнь печени» определяется наличие стеатоза в более чем 5% гепатоцитов на основании результатов гистологического исследования или более чем в 5,6% согласно данным протонной магнитной резонансной спектроскопии.

Сегодня одним из факторов патогенеза НАЖБП, заслуживающих особого внимания, является накопление специфических липидных подвидов в печени – церамидов. В данной статье рассмотрены следующие вопросы: что собой являются церамиды, как они образуются, каким образом они приводят к развитию и прогрессии НАЖБП в неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

## Патогенез

Механизм развития НАЖБП – сложный и мультифакторный. Первоначальной теорией, которая объясняла бы механизм развития НАЖБП, начиная от простого стеатоза и заканчивая стеатогепатитом, фиброзом и циррозом, была «теория двух ударов». Согласно теории, первым условием развития НАЖБП было накопления липидов в печени, а вторым «ударом» – активация воспалительного каскада и фиброгенеза [11]. Однако эта теория слишком упрощала весь сложный механизм патогенеза НАЖБП, поскольку не учитывала синергическое взаимодействие множества факторов при возможной генетической предрасположенности пациента. Поэтому на смену этой теории, пришла новая – «мультиударная» гипотеза.

В основе «мультиударной» гипотезы лежит наличие постоянно воздействующей комбинации факторов (питания,

внешней среды, генетической и фенотипической предрасположенности), результатом влияния которых является инсулинорезистентность. В свою очередь инсулинорезистентность – это важный фактор в развитии стеатоза и стеатогепатита, поскольку увеличивает липогенез в печени (де ново), а также усиливает тканевую липолиз, что приводит к избыточному поступлению жирных кислот в печень [12].

Накопление жирных кислот в печени в форме триглицеридов, а также церамидов происходит одновременно с увеличением липотоксичности за счет свободных жирных кислот, свободного холестерина и других липидных метаболитов. Это приводит к дисфункции митохондрий с появлением оксидативного стресса, продукции свободных радикалов, а также к нарушению функции эндоплазматического ретикулума (endoplasmic reticulum stress) в результате чего активируется воспалительный ответ, апоптоз и фиброгенез [13].

## Определение церамидов

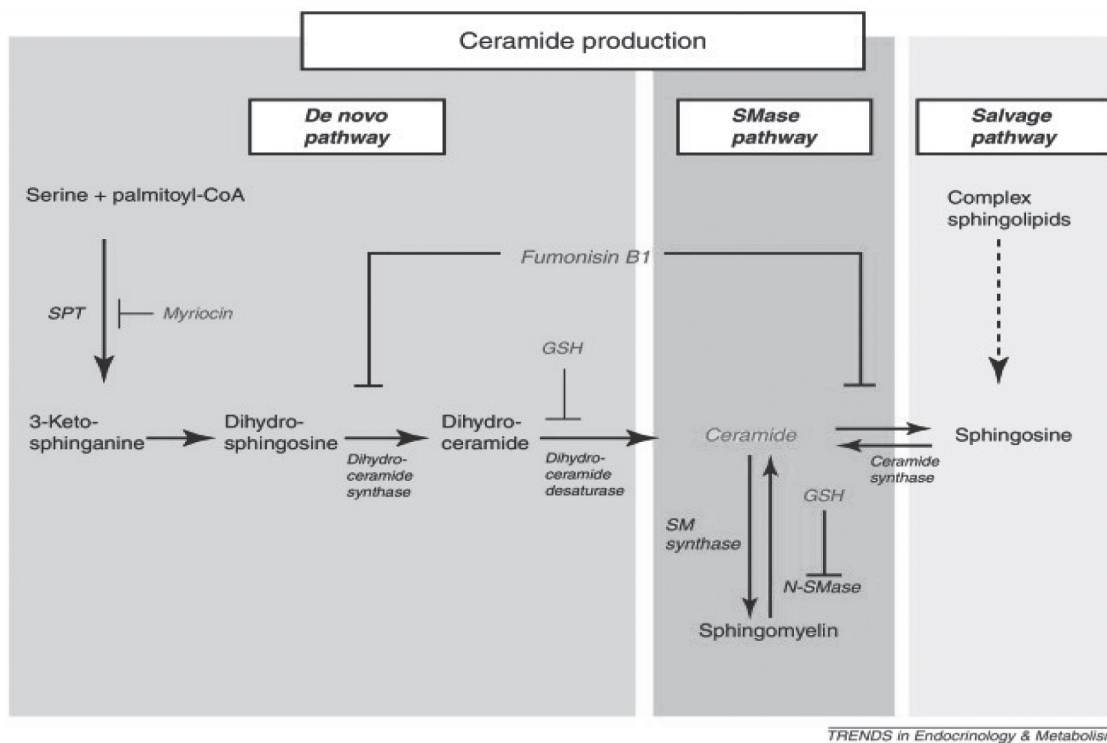
Слово *церамиды* (*ceramide*) происходит от латинских слов «сега» – воск и «амиде» – белок. Иными словами, церамиды – это жиры семейства сфинголипидов, состоящие из насыщенных, моно- и ненасыщенных цепей жирных кислот, связанных с аминогруппой, основой которой является сфингозин [14]. Церамиды составляют гидрофобное ядро всего комплекса сфинголипидов, включая сфингомиелин, цереброзиды и ганглиозиды, и являются важной составляющей в липидной двуслойной структуре клеточной стенки [15]. Тем не менее помимо барьерной функции, церамиды также выполняют ряд важных функций, являясь вторичными мессенджерами, принимая участие в процессе дифференциации, пролиферации и апоптоза клетки.

Синтез церамидов происходит практически во всех органах. Однако исследования показали, что основным местом образования церамидов является печень [20]. Образование церамидов осуществляется тремя механизмами:

- de novo;
- с помощью сфингомиелиназы (SMase);
- путем превращения сфингозина под действием церамидсинтазы.

Образование церамидов путем de novo происходит в эндоплазматической сетке с помощью реакции пальмитоил-КоА и серина, которая катализируется ферментом серин-пальмитоил-КоА трансферазой (serine palmitoyl-CoA transferase). В результате образуется 3-кетосфинганин, дегидрофингозин, дегидроцерамид и в конечном результате – церамиды. Помимо серин-пальмитоил-КоА трансферазы в реакции также участвуют такие ферменты, как дигидроцерамидсинтаза и дегидроцерамид десатураза. Последний фермент благодаря антиоксидантной системы, а именно глутатиону, может угнетаться, останавливая чрезмерное образование церамидов [16].

Повышенному образованию церамидов путем de novo способствует диета с преобладанием насыщенных (пальмитиновая кислота) и ненасыщенных жиров (олеиновая кислота), инфекция (липолисахариды), микробиота, провоспалительные цитокины (TNF- $\alpha$ , IL-1), а также оксидативный стресс [17]. Так, Chocian и соавторы подтвердили, что у мышей, в питании которых превалировало из-



TRENDS in Endocrinology & Metabolism

**Рис. 1. Синтез церамидов: de novo, сфингомиелиназой, керамидсинтазой (salvage pathway). GSH- глутатион. Myriocin, Fumonisin B1 специфические ингибиторы серин пальмитоил-КоА трансферазы и нейтральной сфингомиелиназы [30]**

быточное количество насыщенных жирных кислот, наблюдались повышенные уровни церамидов и сфингомиелина в печени [18]. Более того, дальнейшие исследования на мышцах показали, что воздействие на культивированные гепатоциты мышей IL-1b также приводит к повышению уровня внутриклеточных церамидов и сфингомиелина [19]. Аналогичные результаты были достигнуты в исследованиях воздействия липополисахаридов на уровень церамидов в печени мышей [20].

Вторым механизмом синтеза церамидов является гидролиз сфингомиелина в клеточной стенке. Данная реакция, происходит с помощью сфингомиелиназы (sphingomyelinase SMase). Существует два вида сфингомиелиназы. В зависимости от pH ее подразделяют на кислую и нейтральную. Основным преимуществом этого механизма, является скорость образование церамидов. Повышенная активность сфингомиелиназы возникает в ответ на провоспалительные цитокины особенно TNF-α и др. [21].

Последним источником церамидов является катаболизм сложных сфинголипидов с последующем образованием сфингозина, который с помощью церамидсинтазы превращается в церамиды (рис. 1).

Как было сказано выше, одним из источников активации синтеза церамидов выступают провоспалительные цитокины. Одним из таких цитокинов является TNF-α. Путем взаимодействия с определенным рецептором (TNFR1), TNF-α активирует сфингомиелиназу, усиливая продукцию церамидов [22]. Помимо TNF-α, на синтез церамидов также влияют другие цитокины как: IL-1, IL-6.

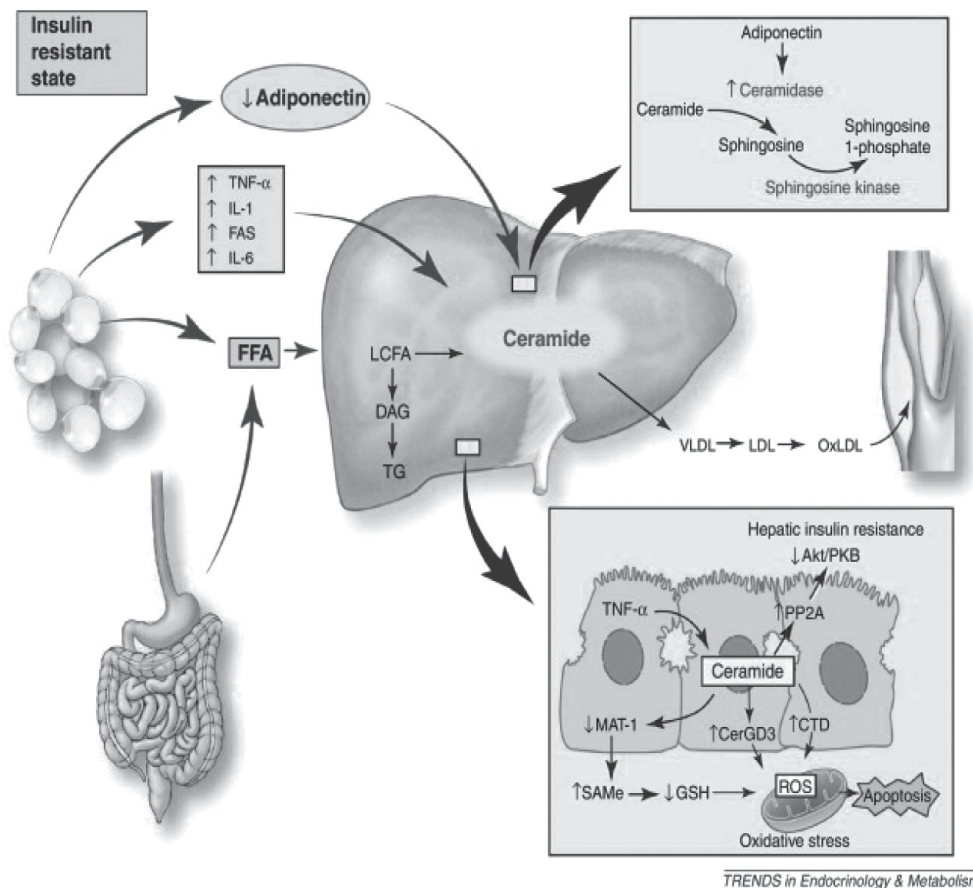
**Однако кроме прямого влияния провоспалительных цитокинов на продукцию церамидов, существует обратная связь между ними.** Например, повышение уровня церамидов в печени непосредственно влияет на продукцию цитокинов путем воздействия церамидов на факторы транскрипции, а именно на ядерный фактор-каппа бета (NF-kB) [23]. Таким

образом, создается замкнутый круг и синергически потенцируются метаболические, повреждающие эффекты обоих факторов. Однако, для поддержания гомеостаза, организм отвечает *антицерамидной системой*, к которой относится ряд различных цитокинов, например, адипонектин. Он не только подавляет синтез церамидов (угнетает превращение церамидов в сфингозин-1-фосфат), но и уменьшает печеночный глюконеогенез, липогенез, улучшает окисление жиров в митохондриях. Тем не менее, на фоне метаболического синдрома, продукция адипонектина уменьшается, прокладывая путь другому, уже противоположному по эффекту цитокину – лептину (рис. 2).

Вопрос о роли церамидов в процессе апоптоза остается открытым, поскольку существует немало данных об их непосредственной роли в апоптозе по внутреннему пути. Основной мишенью церамидов на пути к апоптозу являются митохондрии. Поскольку именно они являются источниками белков апоптоза в клетках, то нарушение их целостности приводит не только к потери их основной функции (продукция АТФ), но и к апоптозу клетки.

Основные патофизиологические эффекты церамидов на митохондрии:

1. Активация катепсина Д, влияет на про-апоптотический белок Bid, который перемещается и встраивается в митохондриальную оболочку, тем самым разрушая ее.
2. Активация протеинкиназы Сδ (PKCδ), которая также транслоцируется и внедряется в митохондриальную оболочку, разрушая ее, с последующим выделением белков апоптоза (цитохром с).
3. Инактивация анти-апоптотических белков семейства Bcl-2 путем влияния на белок z p53, а также на протеинфосфатазу 2 (PP2), активация каспазы 2 приводит к нарушению проницаемости внешней оболочки митохондрии.
4. Активация белка p38, приводит к активации про-апоптотических белков семейства Bax.



TRENDS in Endocrinology & Metabolism

**Рис. 2. Роль церамидов в развитии НАЖБП**

*Примечание:* FFA – свободные жирные кислоты, LCFA – длинноцепочные жирные кислоты, DAG – диацилглицерол, TG – триглицериды, VLDL – липопротеиды очень низкой плотности, LDL – липопротеиды низкой плотности, MAT-1 – метионин аденозилтрансфераза-1, SAMe – S-Аденозилметеонин, GSH – глутатион, Akt/PKB – протеинкиназа B, PP2A – протеинфосфатаза 2A, ROS – реактивные продукты кислорода, CTD – церамидаза, CerGD3 – керамидганглиозид 3 [30].

5. Влияние на баланс кальция внутри клетки путем его повышения.

6. Образование непосредственно церамидных каналов в митохондриальной стенке.

Все вышеперечисленные механизмы влияют на структурную целостность митохондрий. В результате формируются так называемые митохондриальные каналы, которые приводят к повышенной проницаемости митохондрий, нарушению митохондриального потенциала и выделению белков апоптоза. К таким белкам относятся цитохром C, апоптоз-индуцированный белок, эндонуклеаза G. В целом апоптоз бывает каспазозависимый и независимый. Выделение белка цитохрома с приводит к активации каспазы 3 и апоптозу. В то же время эндонуклеаза G, апоптоз-индуцированный белок приводят к апоптозу независимо от каспазы.

Несмотря на то что апоптоз – это многогранный процесс, в котором принимают участие многие структуры и белки, все же он является приоритетной целью в лечении многих заболеваний. Поэтому очень важно найти триггерный фактор, который запускает запрограммированную клеточную смерть. Одним из таких факторов являются церамиды. Дальнейшее изучение их природы и роли церамидов в процессе апоптоза представляет большой интерес сегодня, в том числе и в контексте НАЖБП.

К прочим патофизиологическим механизмам церамидов можно отнести их влияние на инсулинорезистентность.

Данный механизм осуществляется путем уменьшения транслокации GLUT4, инактивация протеин киназы B (Akt/PKB) и угнетения глюкокиназы. Таким образом, церамиды уменьшают инсулин-чувствительность, захват глюкозы и перенос ее в клетку, а также нарушают превращение глюкозы в гликоген в печени. Также церамиды способствуют продукции свободных радикалов в митохондриях и угнетают метионин-аденозилтрансфераза-1A, тем самым уменьшая продукцию глутатиона (рис. 2).

## ВЫВОДЫ

Согласно последнему протоколу по неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), лечение таких пациентов должно быть комплексным. Однако, учитывая множество факторов, которые принимают участие в развитии НАЖБП, порой бывает очень сложно подобрать лечение. Для того чтобы достичь этой цели, необходимо выделить приоритетный фактор в развитии НАЖБП. Одним из таких факторов являются церамиды. Учитывая их многогранное влияние на клетку, особенно их роль в процессе апоптоза, можно предложить таргетную терапию. Влияние на церамиды или на ферменты, которые берут участие в их синтезе, возможно в будущем позволит оптимизировать существующую терапию НАЖБП и сделать ее более удобной для пациента и более эффективной для врача.

**Цераміди як фактор ризику неалкогольної жирової хвороби печінки**

**Л.Л. Павловський, В.В. Чернявський**

Сьогодні одним із факторів патогенезу неалкогольної жирової хвороби печінки, які заслуговують особливої уваги, є накопичення специфічних ліпідних підвидів в печінці – церамідів. У статті висвітлені наступні питання: що таке цераміди, як вони утворюються, яким чином вони впливають на апоптоз та розвиток інсулінорезистентності.

**Ключові слова:** неалкогольна жирова хвороба печінки, цераміди, апоптоз, інсулінорезистентність.

**Ceramide as a risk factor of nonalcoholic fatty liver disease**

**L.L. Pavlovskiy, V.V. Chernyavskiy**

At present, one of the factors of the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease, which deserve particular attention, is the accumulation of specific lipid subspecies in the liver – ceramides. This article shows what the ceramides are, how they are formed, and how they influence on apoptosis and development of insulin.

**Key words:** nonalcoholic fatty liver disease, ceramide, apoptosis, insulin resistance.

**Сведения об авторах**

**Павловский Леонид Леонидович** – Кафедра внутренней медицины № 1 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, 01601, г. Киев, бульвар Т. Шевченко, 17; тел.: (050) 216-02-71. E-mail: *Leonya09@i.ua*

**Чернявский Владимир Владимирович** – Кафедра внутренней медицины № 1 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, 01601, г. Киев, бульвар Т. Шевченко, 17; тел.: (067) 404-32-33. E-mail: *vcch1979@gmail.com*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

- Vernon, G., Baranova, A., and Younossi, Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 34: 274–28
- Angulo P. Epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *P. Angulo //Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* – 2007. – V. 25. – P. 883–889. 205.
- Oh M.K. Review article: diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *M.K.Oh, J.Winn, F. Poordad // Ailment Pharmacol Ther.* – 2008. – Vol. 28. – P. 503–522. 206.
- Exendin-4 improves steatohepatitis by increasing Sirt1 expression in highfat diet-induced obese C57BL/6J mice. *J Lee, SW Hong, SW Chae et al. // PloS One.* – 2012. –Vol.7, N2. – P:63-72. 207.
- Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis. *K Promrat, DE Kleiner, HM Niemeier, E Jackvony et al.// Hepatology.* - 2010. - V51. - P121-129
- Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30:1212–1218.
- Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, Bajjal R, Lala S, Chaudhary D, Deshpande A. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Ann Hepatol.* 007; 6 (3):161-26. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, ho K, Sung IK.
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34: 274-285
- EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease 2016
- Argo CK, Caldwell SH. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2009; 13:511–31.
- Peveerill W, Powell LW, Skoien R. Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: beyond steatosis and inflammation. *Int J Mol Sci* 2014; 15:8591–638.
- Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, et al. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des* 2010; 16:1941–51.
- Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2009; 13:545–63.
- Giovanni Musso Maurizio Cassader and Roberto Gambino. Non-alcoholic steatohepatitis: emerging molecular targets and therapeutic strategies 2016
- Castro, B. M., Prieto, M. & Silva, L. C. Ceramide: a simple sphingolipid with unique biophysical properties. *Prog. Lipid Res.* 54, 53–67 (2014).
- Gault, C.R. et al. (2010) An overview of sphingolipid metabolism: from synthesis to breakdown. *Adv. Exp. Med. Biol.* 688, 1–23
- Frangioudakis, G. et al. (2010) Saturated- and n-6 polyunsaturated-fat diets each induce ceramide accumulation in mouse skeletal muscle: reversal and improvement of glucose tolerance by lipid metabolism inhibitors. *Endocrinology* 151, 4187–4196
- Chocian, G. et al. (2010) High fat diet induces ceramide and sphingomyelin formation in rat's liver nuclei. *Mol. Cell. Biochem.* 340, 125–131
- Nikolova-Karakashian, M.N. and Rozonova, K.A. (2010) Ceramide in stress response. *Adv. Exp. Med. Biol.* 688, 86–108
- Holland, W.L. and Summers, S.A. (2008) Sphingolipids, insulin resistance, and metabolic disease: new insights from in vivo manipulation of sphingolipid metabolism. *Endocr. Rev.* 29, 381–402
- Clarke, C.J. et al. (2006) The extended family of neutral sphingomyelinases. *Biochemistry* 45, 11247–11256
- Mari, M. and Fernandez-Checa, J.C. (2007) Sphingolipid signalling and liver diseases. *Liver Int.* 27, 440–450
- Summers, S.A. (2006) Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog. Lipid Res.* 45, 42–72
- Semple, R.K. et al. (2009) Postreceptor insulin resistance contributes to human dyslipidemia and hepatic steatosis. *J. Clin. Invest.* 119, 315–322
- JeBailey, L. et al. (2007) Ceramide and oxidant-induced insulin resistance involve loss of insulin-dependent Rac-activation and actin remodeling in muscle cells. *Diabetes* 56, 394–403
- Ribaux, P.G. and Iynedjian, P.B. (2003) Analysis of the role of protein kinase B (cAKT) in insulin-dependent induction of glucokinase and sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP1) mRNAs in hepatocytes. *Biochem. J.* 376, 697–705
- Colombini, M. (2010) Ceramide channels and their role in mitochondria-mediated apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 1239–1244
- Mari, M. et al. (2008) Mechanism of mitochondrial glutathione-dependent hepatocellular susceptibility to TNF despite NF-kappaB activation. *Gastroenterology* 134, 1507–1520
- Edelmann, B. et al. (2011) Caspase-8 and caspase-7 sequentially mediate proteolytic activation of acid sphingomyelinase in TNF-R1 receptosomes. *EMBO J.* 30, 379–394
- Mangesh Pagadala, Takhar Kasumov, Arthur J. McCullough, Nizar N. Zein, and John P. Kirwan Role of Ceramides in Nonalcoholic Fatty Liver Disease *Trends Endocrinol Metab.* 2012 Aug; 23(8): 365–371.

Статья поступила в редакцию 03.06.2018