

УДК 616.36-003.826-092

Патогенетическое значение липидов при неалкогольной жировой болезни печени

Ю.О. Шульпекова

(Клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Росздрава)

Pathogenic role of lipids in non-alcoholic fatty liver disease

Yu.O. Shulpekova

Цель обзора. Рассмотреть основные представления о повреждающей роли липидов в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

Основные положения. По современным представлениям, центральную роль в повреждении клеток печени при НАЖБП играет стресс эндоплазматического ретикулума, который сопровождается дисфункцией белков – шаперонов. Последующие биохимические изменения ведут к нарушению клеточного дыхания, нарушению целостности митохондрий, повышают вероятность гибели гепатоцита. Непосредственным толчком для развития стресса эндоплазматического ретикулума служит избыточное накопление свободных жирных кислот, а индуцируемые ими события в клетке получили название «липотоксического стресса», «липоапоптоза».

Максимальным повреждающим потенциалом обладают насыщенные жирные кислоты – пальмитиновая и стеариновая, что, возможно, объясняется их более медленным включением в состав эфиров. В патогенезе НАЖБП важную роль играют также другие повреждающие факторы, например окислительный стресс, поэтому сегодня правомерно существование теории «множественных параллельных толчков».

Защитным действием могут обладать ненасыщенные жирные кислоты, эссенциальные фосфолипиды, антиоксиданты, силимарин, гиполлипидемические средства, глитазоны. Изучается возможность лечебного применения ингибиторов каспаз, катепсина В, JNK-киназы, «химических шаперонов».

The aim of review. To discuss main concepts on the damaging role of lipids in *non-alcoholic fatty liver diseases* (NAFLD) pathogenesis.

Original points. According to modern concepts, at NAFLD stress of endoplasmic reticulum plays the central role in damage of liver cells which is accompanied by dysfunction of chaperone proteins. The subsequent biochemical changes cause disorders of cellular respiration, disorder of mitochondrial integrity, increase probability of hepatocyte death. Excessive accumulation of free fatty acids acts as direct impulse for development of endoplasmic reticulum stress, and resulting events inside a cell are named «lipotoxic stress» or «lipoapoptosis».

Saturated fatty acids – palmitic and stearic have maximal damaging potential, that, probably, is related to slower incorporation of esters. In NAFLD pathogenesis other damaging factors, e.g. oxidative stress play important role, therefore the theory of «multiple collateral impulses» is justified today.

Unsaturated fatty acids, essential phospholipids, antioxidants, silymarin, hypolipidemic agents, glitazones can have protective action. Potential of medical application of caspase inhibitors, cathepsin B, JNK-kinase and «chemical chaperones» is under investigation.

Conclusion. Lipoapoptosis is considered as cardinal marker of NAFLD, and free fatty acids – as activators of the programmed death of hepatocytes. The further studying molecular events at lipotoxic stress will, probably, open new era in the treatment of fatty liver disease.

Шульпекова Юлия Олеговна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова Росздрава. Контактная информация: Juliash@mail333.com; 119991, Москва, ул. Погодинская, д.1, стр. 1

Заключение. Липоапоптоз рассматривается как кардинальный признак НАЖБП, а свободные жирные кислоты – как активаторы программированной гибели гепатоцитов. Дальнейшее изучение молекулярных событий при липотоксическом стрессе, возможно, откроет новую страницу в лечении жировой болезни печени.

Ключевые слова: насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, липотоксический, окислительный стресс, неалкогольная жировая болезнь печени, патогенез, лечение.

Key words: saturated and unsaturated fatty acids, lipotoxic, oxidative stress, non-alcoholic fatty liver disease, pathogenesis, treatment.

Объем научных исследований, посвященных патогенезу *неалкогольной жировой болезни печени* (НАЖБП), в последние годы нарастает, «как снежный ком». Для этого заболевания характерны значительные изменения в работе молекулярных звеньев, регулирующих метаболизм и способность клетки к выживанию. Особый интерес вызывает изучение повреждающего действия липидов на клетки печени [7].

В 1998 г. С.Р. Day, О.Ф. James для объяснения патогенеза НАЖБП предложили гипотезу «двух толчков». «Первым толчком» служит накопление избыточного количества липидов в гепатоцитах – жировая дистрофия, «вторым толчком» – реакция перекисного окисления, которая сопровождается апоптозом и некрозом клеток, реактивным воспалением, развитием фиброза [17].

В процессе изучения обмена липидов установлено, что некоторые их виды, в особенности *свободные жирные кислоты* (СЖК), проявляют самостоятельное токсическое действие на клетки печени. Это положило начало *учению о «липотоксичности»* и позволило более четко обосновать связи между избыточным поступлением СЖК с пищей, инсулинорезистентностью и последовательностью событий, приводящих к повреждению гепатоцитов. Стеатоз перестал рассматриваться как обязательная предпосылка к повреждению гепатоцитов. Избыточное накопление *триглицеридов* (ТГ) в клетках, возможно, даже отражает приспособительную реакцию нейтрализации избытка СЖК [14, 52].

На основе накопленных данных сложилась теория «множественных параллельных толчков», которая объясняет патогенез НАЖБП воздействием на печень разнообразных факторов, происходящих из висцеральной жировой ткани и желудочно-кишечного тракта (СЖК, липополисахарида бактерий цитокинов, адипокинов) на фоне окислительного стресса и особенностей врожденного иммунитета [60, 76]. «Липотоксичность» – важнейшая составляющая теории «множественных параллельных толчков».

В настоящей статье дан краткий обзор, касающийся роли различных липидов в патогенезе НАЖБП.

Свободные жирные кислоты

Избыточное накопление СЖК в гепатоцитах играет важнейшую роль в патогенезе НАЖБП. Причинами «перегрузки» жирными кислотами могут быть:

– избыточное поступление СЖК после приема пищи (вследствие гидролиза «пищевых» триглицеридов) и вне ее приема (вследствие активного липолиза в жировой ткани, присущего инсулинорезистентности),

– снижение активности бета-окисления жирных кислот в гепатоцитах, характерное для инсулинорезистентности или связанное с воздействием лекарств (при вторичной НАЖБП),

– нарушение экспорта *липопротеидов очень низкой плотности* (ЛПОНП) из гепатоцитов при нарушении синтеза апопротеинов С, Е и В100.

Уровень жирных кислот в сыворотке крови при НАЖБП повышен и коррелирует с тяжестью течения болезни [7, 20]. Преимущественно повышено содержание насыщенных (в частности, пальмитиновой) и мононенасыщенных (олеиновой и пальмитолеиновой) жирных кислот [18].

Опыты на животных показали, что при гиперинсулинемии и жировой болезни печени основные источники СЖК в печени – липолиз в висцеральной жировой ткани и синтез в гепатоцитах *de novo*. Около 60–80% циркулирующих СЖК при НАЖБП происходят из жировой ткани и до 25% липидов печени представлено вновь синтезированными жирными кислотами (у здорового человека до 5%) [22]. Избыточное потребление углеводов и снижение утилизации глюкозы сопровождаются более активным синтезом жирных кислот. Чрезмерное потребление фруктозы predisполагает к выработке насыщенных СЖК [16, 53].

На долю поступающих в гепатоциты «пищевых» СЖК приходится ≈15% [20, 22].

Ядерные рецепторы активации пероксисом дельта (*peroxisome proliferator-activated receptor δ* – PPAR δ) выполняют роль «сенсоров» уровня циркулирующих СЖК, и их значение в патогенезе НАЖБП продолжает изучаться [7].

Перенос жирных кислот в гепатоциты осуществляется путем пассивной диффузии, а также специфическими мембранными транспортерами жирных кислот FATP (*fatty acid transport protein*). Внутри клетки СЖК переносятся белками-транспортерами L-FABP (*liver-specific fatty acid-binding protein*). Переносчики жирных кислот достаточно плотно представлены на мембране гепатоцита; при НАЖБП их активность повышена [7, 10].

В гепатоцитах СЖК могут подвергаться эстерификации с образованием метаболически нейтральных ТГ — это буферный механизм, предохраняющий клетку от «перегрузки» жирными кислотами. При НАЖБП без признаков активности и прогрессирования отмечено максимальное содержание нейтрального жира [4].

Ненасыщенные СЖК быстрее связываются и преобладают в составе ТГ и фосфолипидов [7]. Соотношение насыщенных и ненасыщенных СЖК в ткани печени при НАЖБП существенно не отличается от нормы, что можно объяснить адаптивным нарастанием скорости образования эфиров при жировой болезни.

При избыточном поступлении в гепатоциты СЖК проявляют цитотоксическое действие. Существенно более высоким повреждающим потенциалом обладают насыщенные жирные кислоты — пальмитиновая и стеариновая, что, возможно, объясняется их более медленным включением в состав эфиров [7, 50].

Повреждающее действие избытка насыщенных СЖК, в первую очередь, реализуется в эндоплазматическом ретикулуме и может сопровождаться цепью разрушительных для клетки событий, обозначаемых как «стресс эндоплазматического ретикулума».

Кроме того, ненасыщенные СЖК стимулируют *толл-подобный рецептор 4* (TLR4) клетки, что ведет к активации ядерного транскрипционного фактора *kB* (*nuclear factor-kB* — NF-kB) и повышенной продукции провоспалительных цитокинов [7].

Стресс эндоплазматического ретикулума

Эндоплазматический ретикулум (ЭР) выполняет сложные функции, в частности, в нем происходят синтез, гликозилирование, «созревание», «контроль качества» и транспорт белков, выработка различных липидов и формирование липопротеидных комплексов. Кроме того, ЭР регулирует активацию про- и антиапоптотических молекул и гомеостаз кальция в клетке.

Избыточное содержание СЖК, особенно насыщенных, оказывает повреждающее действие на ЭР [78]. Один из изученных аспектов действия

избытка насыщенных жирных кислот — связывание кальция, что ведет к нарушению функции белков — шаперонов, контролирующих восстановление структуры поврежденных протеинов и протеиновых комплексов. Происходит накопление полипептидов с измененным строением и активация адаптивного ответа, получившего название «реакция несвернутых белков» (*unfolded protein response* — UPR).

В ходе «реакции несвернутых белков» активируются киназы, локализованные на мембране ЭР — *активирующий фактор транскрипции 6* (*activating transcription factor 6* — ATF6), *PKR-подобная киназа эндоплазматического ретикулума* (*PKR-like ER kinase* — PERK) и *инозитол-зависимый фермент 1α* (*inositol-requiring enzyme* — IRE 1α). Активация этих киназ в рамках адаптивного ответа направлена на разрушение накопившихся белков неправильной структуры и их фрагментов [7].

При чрезмерной активации киназ ЭР и срыве адапционных механизмов начинается цепь молекулярных событий, приводящая к запрограммированной гибели клетки. Первые звенья этой цепи — активация *Jun-зависимой протеинкиназы* (JNK) и *белка-регулятора транскрипции* СНОР (*ССААТ/ enhancer binding homologous protein*) [77].

Сигнальный каскад JNK. Длительная и чрезмерная активация JNK на фоне стресса ЭР может приводить к запрограммированной гибели клетки [15]. JNK фосфорилирует фактор транскрипции c-Jun и в конечном итоге стимулирует выработку белка-регулятора апоптоза, запускаемого p53 (*p53-upregulated modulator of apoptosis* — PUMA). Последующая олигомеризация белка Bax (*Bcl-2-associated X protein*) запускает «митохондриальный путь» апоптоза (рис. 1, 2) [7].

JNK повышает экспрессию на цитоплазматической мембране Fas-лиганда и лиганда, индуцирующего апоптоз при воздействии *фактора некроза опухоли α* (*TNF-related apoptosis-inducing ligand* — TRAIL). Эти рецепторы запускают «внешний путь» апоптоза (см. рис. 1, 2). Вообще плотность различных «рецепторов клеточной смерти» — TRAIL-рецептора, Fas-рецептора и рецептора TNFα 1-го типа в условиях воздействия избытка СЖК на фоне ожирения и при стеатогепатите повышается [7].

JNK воздействует и на другие белки-регуляторы запрограммированной клеточной смерти: фосфорилирование Bcl-2 и Bcl-xL уменьшает их антиапоптотическую активность, фосфорилирование Bad, Vim и Bax повышает проапоптотический потенциал [7, 44, 84]. Есть все основания полагать, что эти молекулярные события происходят при «липотоксическом» стрессе ЭР.

Сигнальный каскад СНОР (см. рис. 1, 2). Фактор транскрипции СНОР регулирует выра-

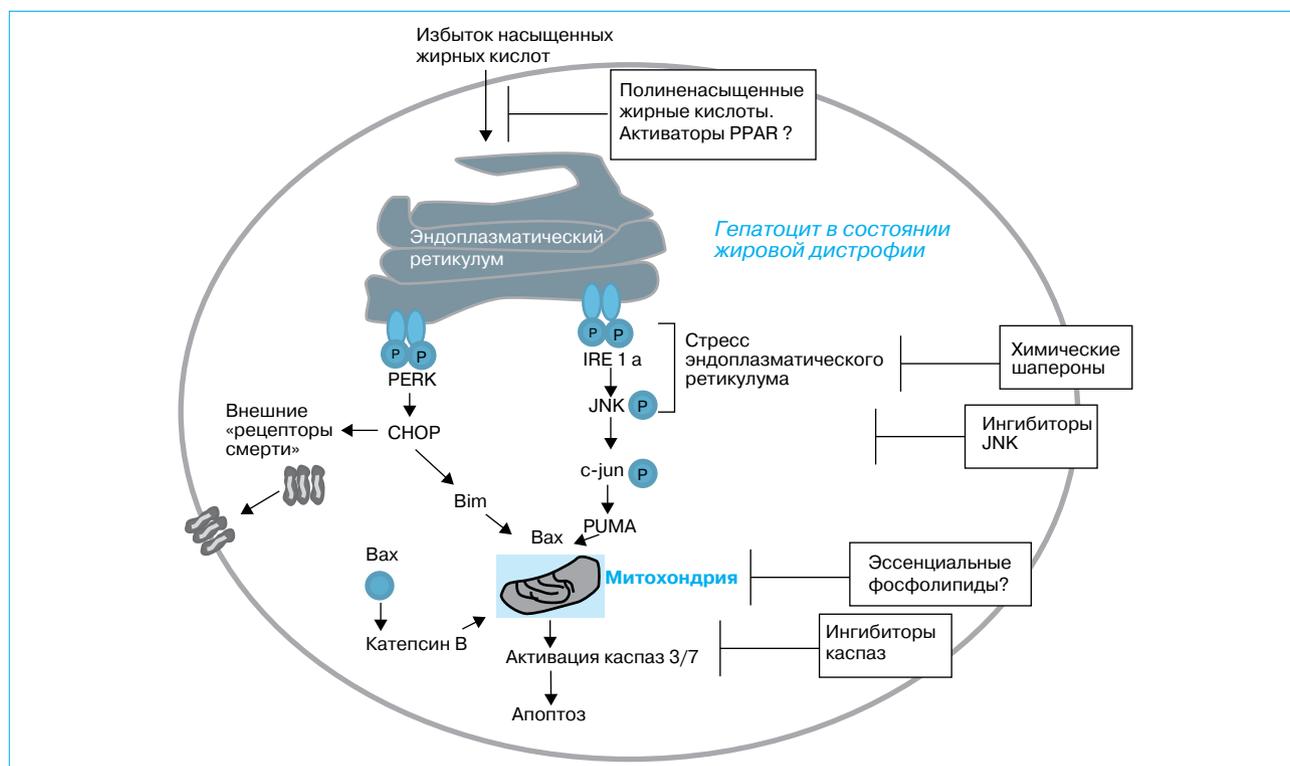


Рис. 1. Стрессовый ответ ЭР (по Cazanave S., Gores G., 2010 [7], с изменениями). Стрессовый ответ развивается при воздействии избытка насыщенных СЖК, вызывающих дисфункцию белков-шаперонов. Накопление в ЭР белков неправильной структуры – «реакция несвернутых белков» может сопровождаться избыточной активацией киназ IRE 1 α и PERK и последующей активацией JNK и CHOP. JNK фосфорилирует фактор транскрипции c-Jun и способствует выработке проапоптотического белка PUMA. Фактор транскрипции CHOP повышает активность проапоптотических белков Bim. В ансамбле с PUMA Bim вызывает олигомеризацию Bax на мембране митохондрий и лизосом, что обуславливает повышение их проницаемости. Утечка компонентов матрикса в цитоплазму ведет к активации каспаз. CHOP стимулирует экспрессию внешних «рецепторов смерти», повышающих восприимчивость гепатоцитов к повреждающим внешним воздействиям – TNF α и Fas-лиганду. На схеме показаны также точки приложения некоторых лекарственных средств, которые применяются в лечении НАЖБП или проходят различные фазы исследований

ботку некоторых белков, контролирующих «митохондриальный путь» апоптоза. При «липотоксическом» стрессе CHOP уменьшает содержание антиапоптотического белка Bcl-2 и в содружестве с молекулой C/ERB α повышает транскрипцию проапоптотического белка Bim. Кроме того, CHOP может повышать плотность рецепторов TRAIL. Эти события лежат в основе апоптоза гепатоцитов, инициированного СЖК [5, 7, 82].

Стресс ЭР играет определяющую роль в развитии резистентности к инсулину на фоне ожирения: постоянная активация JNK сопровождается фосфорилированием и инактивацией субстрата инсулинового рецептора-1 [54].

Указанный стресс сопровождается нарастающим выражением жировой дистрофии гепатоцитов. При «реакции несвернутых белков» происходит протеолиз стерол-регулируемого ингибитора транскрипции-1c (*sterol regulatory element binding protein-1c* – SREBP-1c) и, как следствие, индукция генов, кодирующих структуру ферментов липогенеза. Кроме того, при стрессе ЭР угне-

тается выработка апопротеина B100 и нарушается секреция ЛПОНП [28].

Окислительный стресс

Получены убедительные доказательства развития окислительного стресса в гепатоцитах при жировой болезни печени, но его роль в патогенезе до конца не определена [8, 33, 45, 68, 74]. В крови и ткани печени пациентов с НАЖБП наблюдается существенное повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов и окислительного повреждения ДНК [8, 42, 68]. Доказать наличие одновременно дефицита антиоксидантов пока не удалось, поэтому нельзя исключить, что печень адаптируется к окислительному стрессу [58]. Эффективность витамина Е в уменьшении активности НАЖБП у достаточно большой доли больных косвенно подтверждает роль окислительного стресса в патогенезе [66].

В условиях окислительного стресса может происходить активация фермента JNK и транс-

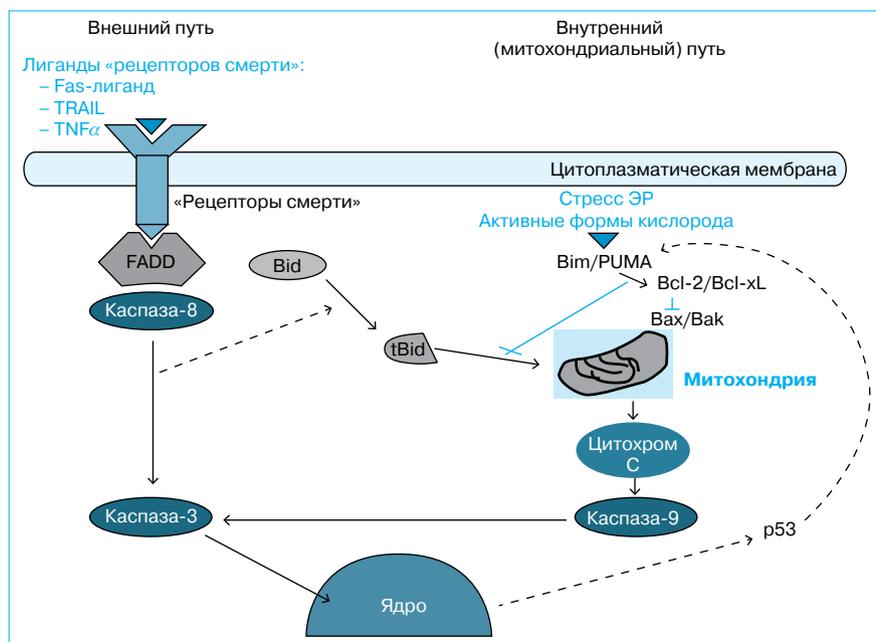


Рис. 2. Пути программированной гибели клетки (по Parrino J. и соавт., 2007 [57], с изменениями). Внешний путь апоптоза «запускают» молекулы, связывающиеся с клеточными «рецепторами смерти»; к ним относят, в частности, TRAIL, TNF α и Fas-лиганд. При взаимодействии рецептора с лигандом «домен смерти» FADD активирует каспазу-8 и в конечном итоге рестриктазы, расщепляющие ДНК.

При реализации апоптоза по внутреннему пути такие факторы, как стресс ЭР или активные формы кислорода приводят к развитию митохондриальной дисфункции. Стресс ЭР сопровождается активацией проапоптотических белков Bim и PUMA. Белок p53 также повышает активность этих молекул. Bim и PUMA угнетают функции антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-xL и стимулируют олигомеризацию белка Bax на мембране митохондрий и лизосом. Вследствие образования пор в мембране происходит утечка цитохрома С в цитозоль. Это приводит к активации каспазы-9 и в конечном итоге рестриктазы, расщепляющих ДНК. Связь между внешним и внутренним путями апоптоза существует в «точке» протеолиза белка Bid (*Bcl-2 interacting domain*) каспазой-8. Образующаяся активная форма tBid (*truncated Bid*) стимулирует олигомеризацию Bax

крипционного фактора NF- κ B с последующей выработкой провоспалительных цитокинов [36]. Окислительный стресс может провоцировать длительную активацию клеток иммунной системы и аутоагрессию по отношению к собственным белкам, структура которых повреждена перекисным окислением [3].

По современным представлениям, в развитии окислительного стресса при НАЖБП ключевую роль играет индукция субъединиц цитохрома P-450 (CYP) 2E1 и 4A, катализирующих окисление жирных кислот. CYP 2E1 локализована в митохондриях и пероксисомах и осуществляет бета-окисление жирных кислот с образованием ацил-коэнзима А, детоксикацию ксенобиотиков, этанола, образованием глюкозы из кетоновых тел. CYP 4A локализована в эндоплазматическом ретикулуме и ответственна за омега-окисление жирных кислот – гидроксирование с превращением в дикарбоновые кислоты.

Активность CYP 2E1 и 4A регулируют молекулы PPAR α – «сенсоры» внутриклеточного содержания ТГ в гепатоцитах объясняли снижением скорости бета-окисления. Однако показано, что при НАЖБП наблюдается PPAR α -независимая индукция CYP 2E1 и 4A, связанная с избытком субстрата – СЖК. Существенного различия в активности CYP 2E1 на стадиях стеатоза и стеатогепатита не выявлено [13, 80].

CYP 2E1 и CYP 4A присоединяют дополнительные электроны к молекуле кислорода, т. е. способствуют выработке его реактивных форм. При наличии «первого толчка» – стеатоза гепатоцитов – это может провоцировать «второй толчок» – реакцию перекисного окисления липидов и повреждение липидных структур клетки, прежде всего мембраны митохондрий [51, 63, 65, 80].

Активные формы кислорода и перекиси липидов повреждают ферменты дыхательной цепи митохондрий [24, 49, 59]. Нарушение целостности митохондрий и «утечка» цитохрома в цитоплазму запускает каскад «программированной» гибели клетки (см. рис. 2) [31, 40,

49]. Роль CYP 2E1 и 4A в чрезмерной продукции реактивных форм кислорода показана в модели неалкогольной жировой болезни печени на мышах [11, 31, 37, 63]. Активность CYP 2E1 повышена в перивенулярной зоне, где соответственно заметно выраженное повреждение ткани печени. Сходство гистологических изменений при НАЖБП и алкогольной болезни печени служит косвенным подтверждением общности патогенетических механизмов этих болезней.

Дисфункция митохондрий и апоптоз при НАЖБП

Термином «дисфункция митохондрий» обозначают структурно-функциональные изменения, сопровождающиеся повреждением мембраны, нарушением работы ионных каналов и трансмембранного потенциала, снижением синтеза АТФ, образованием пор в мембране, в результате чего

происходит утечка компонентов матрикса в цитоплазму. Дисфункция митохондрий может запустить внутренний («митохондриальный») путь апоптоза (см. рис. 2).

Дисфункция митохондрий развивается на фоне окислительного стресса и/или стресса ЭР.

Уже указывалось, что при стрессе ЭР повышается активность проапоптотических молекул Bim и PUMA и происходит олигомеризация Bax на наружной мембране митохондрий. «Сборка» Bax предположительно сопровождается формированием пор в мембране, утечкой цитохрома C в цитоплазму и последующей активацией каспаз 3, 6 и 7 (см. рис. 2) [75].

Олигомеризация Bax возможна также на лизосомах, что ведет к высвобождению протеаз, в частности катепсина В. Протеазы дополнительно повреждают митохондрии (см. рис. 1 и 2). Искусственное подавление активности катепсина В в значительной степени предупреждает развитие митохондриальной дисфункции, вызванной избытком насыщенных СЖК [27].

Кальций, высвобождающийся из поврежденно-го ЭР в цитозоль, может захватываться митохондриями и усугублять их дисфункцию.

Изменения в экспрессии белков — регуляторов апоптоза, а также структурно-функциональные изменения митохондрий документированы при экспериментальном стеатогепатите и НАЖБП [7]. Программированная гибель клетки, инициированная СЖК, получила название «*липоапоптоза*». Реализации липоапоптоза может способствовать окислительный стресс, при котором происходит прямое нарушение целостности клеточных органелл и наблюдается дисфункция митохондрий с нарушением клеточного дыхания и утечкой цитохрома.

В зависимости от энергетического статуса клетки дисфункция митохондрий может вести к ее гибели по механизму апоптоза или некроза [29].

Апоптоз гепатоцитов — характерная черта НАЖБП, и его выраженность коррелирует с тяжестью течения болезни [25].

Роль триглицеридов

Исследования при разных формах НАЖБП показали, что избыточное накопление ТГ в клетке само по себе не сопровождается повреждением ее структур. Преобладание в диете ненасыщенных жирных кислот сопровождается большим накоплением ТГ, но менее выраженной реакцией повреждения клеток. Иными словами, ненасыщенные жирные кислоты как бы противодействуют токсическому потенциалу насыщенных [41].

Роль ферментов, регулирующих клеточные превращения СЖК

Стеароил-СoА-десатураза-1 (SCD-1) катализирует десатурацию пальмитиновой и стеариновой кислот с образованием мононенасыщенных — пальмитолеиновой и олеиновой. Таким образом, SCD-1 косвенно регулирует запасы ТГ в клетке и проявляет защитное антиапоптотическое действие. Низкая активность SCD-1 усугубляет тяжесть течения стеатогепатита, а дефицит холина и метионина способствует угнетению этого фермента [39].

Диацилглицерол-ацилтрансфераза-2 (DGAT-2) — ключевой фермент эстерификации СЖК с образованием ТГ. Подавление DGAT-2 в эксперименте усиливает реакцию повреждения печени и развитие фиброза на фоне пониженного содержания ТГ в клетках [83].

Семейство генов белка, содержащих паталин-подобный фосфолипазный домен (*patatin-like phospholipase domain-containing protein 3* — PNPLA3), кодирует структуру липазы, которая гидролизует ТГ в висцеральной жировой ткани. Другое название этого фермента — адипонутрин. Полиморфизм этих генов с повышенной активностью липазы несет повышенный риск стеатогепатита [85].

Роль церамида и холестерина

Избыточное содержание этих липидов также содействует «липоапоптозу» гепатоцитов.

Церамид играет центральную роль в обмене сфинголипидов. Его избыточное накопление в клетке может быть следствием гидролиза сфингомиелина или синтеза *de novo* из длинноцепочечных СЖК. Содержание церамида в гепатоците возрастает в условиях избытка насыщенных СЖК. Хотя роль церамида в апоптозе клеток непеченочного происхождения достаточно хорошо изучена, его значение при НАЖБП не ясно. Возможно, он участвует в реализации внешнего, Fas-опосредованного, апоптоза гепатоцитов [56].

Свободный холестерин (ХС) токсичен для клеток, что обусловлено его способностью понижать содержание кальция в ЭР, активировать «реакцию несвернутых белков», повышать содержание церамида. В ряду «здоровая печень — стеатоз — стеатогепатит» установлено прогрессивное повышение уровня свободного ХС в ткани печени [61]. При употреблении обогащенной ХС пищи у крыс возрастает концентрация свободного ХС в гепатоцитах, появляются признаки мелкокапельного стеатоза и повышается восприимчивость к TNF α - и Fas-опосредованным «сигналам клеточной смерти» и воспалительной реакции. Перегрузка митохондрий ХС сопровождается дефицитом глутатиона [47].

Роль фосфатидилхолина

Показано, что при НАЖБП по сравнению со здоровыми обследуемыми достоверно снижено содержание фосфатидилхолина в печени. В ряду «здоровая печень — стеатоз — стеатогепатит» отмечается ступенчатое нарастание количественного соотношения «свободный ХС/фосфатидилхолин».

При НАЖБП в крови и печеночной ткани достоверно снижено количество эйкозаполиеновых кислот, в частности арахидоновой, не только в общем пуле СЖК, но и в составе ТГ, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, что может отражаться на балансе эйкозаноидов — регуляторов гомеостаза в клетке [61, 62]. Наиболее отчетливо эти изменения выражены при стеатогепатите. Так как фосфатидилхолин — один из важнейших структурных компонентов мембран и источник эйкозаноидов, чрезвычайно актуально изучение его роли в патогенезе НАЖБП.

Методы лечения, влияющие на проявления липотоксичности и окислительного стресса

Традиционные нелекарственные и лекарственные методы лечения НАЖБП, направленные на коррекцию обменных нарушений (ожирения, сахарного диабета, гиперлипидемии), безусловно, играют определяющую роль в контроле течения болезни. Однако в немалой доле случаев эти меры не позволяют добиться уменьшения активности и темпов прогрессирования стеатогепатита. Продолжаются поиск и разработка новых лечебных средств, действие которых направлено на защиту клеточных структур от повреждающего влияния липидов и окислительного стресса (см. рис. 1).

Обогащение диеты ненасыщенными СЖК. Защитные эффекты ненасыщенных СЖК включают уменьшение биохимических проявлений стресса ЭР (активации JNK и CHOP), предотвращение нарастания содержания проапоптотических белков (PUMA и Bim), олигомеризации Вах и дисфункции митохондрий [7]. Полиненасыщенные жирные кислоты — эйкозапентаеновая (C20:5n-3) и докозагексаеновая (C22:6n-3) активируют молекулы PPAR α и γ и таким образом стимулируют окисление жирных кислот [19]. Отмечено, что при употреблении полиненасыщенных жирных кислот может происходить нарастание стеатоза гепатоцитов, что связано с их влиянием на факторы транскрипции, контролирующие образование липидов *de novo* — SREBP, печеночного X рецептора (*liver X receptor* — LXR α), белка — регулятора обмена углеводов (*carbohydrate response element binding protein* — ChREBP). При этом стеатоз носит

доброкачественный характер и повреждения клеток не наблюдается [67, 71, 72].

В опытах на крысах с жировой болезнью печени при обогащении диеты n-3 полиненасыщенными жирными кислотами обнаруживается уменьшение степени повреждения печени [73]. У пациентов с НАЖБП при дополнительном употреблении полиненасыщенных жирных кислот отмечено снижение активности сывороточной *аланинаминотрансферазы* (АЛАТ) и степени инсулинорезистентности. Однако для выработки строгих рекомендаций необходимо проведение клинических исследований.

Ингибиторы каспаз. Применение ингибиторов каспаз существенно уменьшает число клеток в состоянии апоптоза, вызванного воздействием насыщенных СЖК [44]. В модели стеатогепатита у мышей при применении ингибитора каспаз VX-166 уменьшалась выраженность фиброза печени, вместе с тем эффект в отношении снижения выраженности апоптоза и активности сывороточной АЛАТ не достигнут [81]. Ингибитор каспаз GS9450 (*Gilead Sciences, Inc. — USA*) в лечении неалкогольного стеатогепатита проходит IIА фазу клинических исследований [7].

Ингибиторы катепсина В. Подавление протеолитической активности катепсина В, высвобождающегося из лизосом, способствует уменьшению проницаемости митохондрий, препятствует высвобождению цитохрома С, снижает выраженность апоптоза и воспалительной реакции в печени [27, 38]. Подавление катепсина В — перспективное направление в лечении НАЖБП.

Ингибиторы фермента JNK. Роль продолжительной и избыточной активации этой киназы в патогенезе НАЖБП и в нарастании инсулинорезистентности показана в многочисленных исследованиях. Изоформа 1 (JNK1) повышает проапоптотический потенциал в клетке. Изоформа 2 (JNK2), по всей видимости, проявляет противоположное действие, так как повышает скорость разрушения Bim [7, 70]. Разрабатываются средства селективного подавления JNK1.

Химические шапероны («молекулы, способствующие адаптации»). Данная стратегия подразумевает повышение устойчивости ЭР к липотоксическому стрессу. Назначение мышам с ожирением 4-фенилбутирата, тауродезоксихолевой кислоты способствовало снижению маркёров стресса ЭР (активности киназ PERK, IRE1 α , JNK), повышало чувствительность к инсулину и снижало активность сывороточной АЛАТ [55]. Химические шапероны способствуют уменьшению выраженности жировой дистрофии гепатоцитов, по-видимому, за счет нормализации содержания факторов транскрипции, контролирующих липогенез [28].

Патогенетическая терапия больных НАЖБП включает меры, направленные на уменьшение

повреждения печени продуктами перекисного окисления. Вследствие небезопасности прямые ингибиторы субъединиц цитохрома не могут применяться в клинической практике. Однако разработаны эффективные препараты на основе веществ, уменьшающих последствия окислительного повреждения клеточных структур. К ним относятся S-аденозилметионин и полиенилфосфатидилхолин — смесь полиненасыщенных фосфатидилхолинов [40].

Эссенциальные фосфолипиды, или полиенилфосфатидилхолин. Эссенциальные фосфолипиды по строению представляют собой фосфатидилхолины, содержащие незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты — линолевою, линоленовую, олеиновую. Фосфатидилхолин, содержащий столь большое количество полиненасыщенных жирных кислот, также обозначают термином «*полиенилфосфатидилхолин (polyenylphosphatidylcholine — PPC)*». В организм человека полиненасыщенные жирные кислоты поступают, главным образом, в составе растительных масел. Для создания лекарственных препаратов в промышленных целях PPC экстрагируют из соевых бобов. В составе препаратов PPC 50% приходится на *1,2-длинноолеилфосфатидилхолин (dilinoleoylphosphatidylcholine — DLPC)*. Именно это вещество обладает наиболее высокой биодоступностью и выступает как активный ингредиент лекарств на основе эссенциальных фосфолипидов.

Главная функция фосфолипидов — структурная; они являются важнейшими компонентами клеточных мембран. Фосфолипиды клеточных мембран представлены преимущественно фосфатидилхолинами. За счет поддержания структурной целостности, пластичности и «текучести» мембран органелл они обеспечивают не только целостность последних, но и нормальную работу белков-транспортёров, ферментов, катализирующих процессы окисления, клеточного дыхания, окислительного фосфорилирования, поддержание электрического градиента.

Фосфолипиды входят в состав липопротеинов плазмы крови. Фосфатидилхолин, наряду с апопротеинами, необходим для осуществления адекватного экспорта триглицеридов в составе ЛПОНП из гепатоцитов [1].

Фосфатидилхолин вырабатывается в клетках из фосфатидилэтаноламина при достаточном содержании холина; для эндогенного синтеза холина требуются источник метильных групп метионин и S-аденозилметионин. Метионин участвует в выработке S-аденозилметионина, который и является непосредственным донором метильных групп в процессе синтеза фосфатидилхолина. При НАЖБП скорость метилирования гомоцистеина и трансметилирования метионина существенно понижена, что, вероятно,

сказывается на количестве вырабатываемых фосфолипидов [34].

Метионин-, холин-дефицитная диета, применяющаяся для воспроизведения жировой болезни печени в экспериментах на мышах, сопровождается снижением соотношения содержания фосфатидилхолина к уровню фосфатидилэтаноламина в ткани печени, нарушением текучести и целостности митохондриальной мембраны [6, 48].

Как показывают клинические и экспериментальные работы, снижение содержания фосфатидилхолина в гепатоцитах играет роль в патогенезе жировой болезни печени.

К развитию НАЖБП может предрасполагать функциональный полиморфизм гена *фосфатидилэтаноламин N-метилтрансферазы (phosphatidylethanolamine N-methyltransferase — PEMT)*. Этот фермент катализирует превращение фосфатидилэтаноламина в фосфатидилхолин. Носительство вариантного аллеля Val175Met, характеризующееся пониженной активностью PEMT, существенно чаще ассоциировано с НАЖБП, чем гомозиготность по аллелю «дикого типа». Интересно, что у носителей вариантного аллеля заболевание развивается на фоне нормального или нерезко повышенного индекса массы тела [21].

Показано, что PPC снижает активность CYP2E1 и таким образом противостоит окислительному стрессу и уменьшает риск развития фиброза печени [40].

Применяющиеся сегодня препараты эссенциальных фосфолипидов характеризуются хорошим профилем безопасности. Однако продолжается разработка новых лекарственных форм, которые обладали бы высокоизбирательным действием на печень.

В одной из работ изучался эффект фосфатидилэтаноламина — предшественника фосфатидилхолина — при его целенаправленном введении в гепатоциты. С этой целью был синтезирован конъюгат желчной кислоты и фосфолипида — *урсодексохилил-лизофосфатидилэтаноламин (ursodeoxycholyll-lysophosphatidylethanolamide — UDCA-LPE)*, который легко проникает в гепатоциты за счет транспортёров желчных кислот. В исследовании *in vivo* на мышах UDCA-LPE стимулировал рост клеток и подавлял TNF α -опосредованный апоптоз. При отдельном назначении UDCA и LPE эти эффекты были выражены значительно слабее. UDCA-LPE стабилизировал митохондриальную мембрану и трансмембранный потенциал. Кроме того, он активировал фосфатидил-инозитол-3-киназный каскад, играющий важнейшую роль в регуляции процессов пролиферации, выживания, роста, метаболизма клетки [9].

Антиоксиданты. Витамин E входит в липидную фракцию клеточных мембран. Он подавляет выработку липидных перекисей [32], при окислительном стрессе в эксперименте спо-

собен предотвращать повреждение митохондрий [64]. В исследовании PIVENS (*Pioglitazone vs Vitamin E vs Placebo for Treatment of Non-Diabetic Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis*) показана эффективность витамина E — улучшение гистологической картины при неалкогольном стеатогепатите [66]. В этом исследовании доза витамина E составляла 800 МЕ в сутки, однако вопрос о безопасности этой дозы остается открытым (теоретически возможны нарушения свертываемости крови).

Комбинация витамина E и урсодезоксихолевой кислоты положительно влияла на уровень сывороточных аминотрансфераз и гистологические показатели [23].

Силимарин, очищенный экстракт чертополоха (*Silybum marianum*), содержит четыре флавонолигнана — силибинин, изосилибинин, силидианин, силикристин. Главная составляющая — силибинин в экспериментах проявляет свойства эффективного антиоксиданта, восполняет запасы восстановленного глутатиона в гепатоцитах, уменьшает степень повреждения мембранных структур и активацию NF-κB [46, 69, 79].

В «мышинной модели» НАЖБП при введении в пищу комплекса силибинина с фосфатидилхолином отмечались уменьшение выраженности стеатоза, воспаления, показателей перекисного окисления липидов, снижение уровня инсулина и TNFα в плазме [30].

Назначение силибинина в комплексе с фосфатидилхолином сопровождается подавлением фиброгенеза в печени и улучшением регенерации [35].

Тиазолидиндионы (глитазоны) стимулируют ядерные рецепторы PPAR (преимущественно γ), что изменяет транскрипцию генов, участвующих в контроле метаболизма глюкозы и липидов в жировой ткани, скелетных мышцах и печени. За счет повышения чувствительности тканей к инсулину может уменьшаться скорость липолиза в жировой ткани. Стимуляция PPAR сопровождается нарастанием скорости окисления СЖК, а также продукции апополипротеинов, что может положительно влиять на липидный состав клетки. Влияние глитазонов на показатели липотоксического стресса пока не исследовано.

Гиполипидемические средства. Фибраты проявляют свойства агонистов PPAR и могут

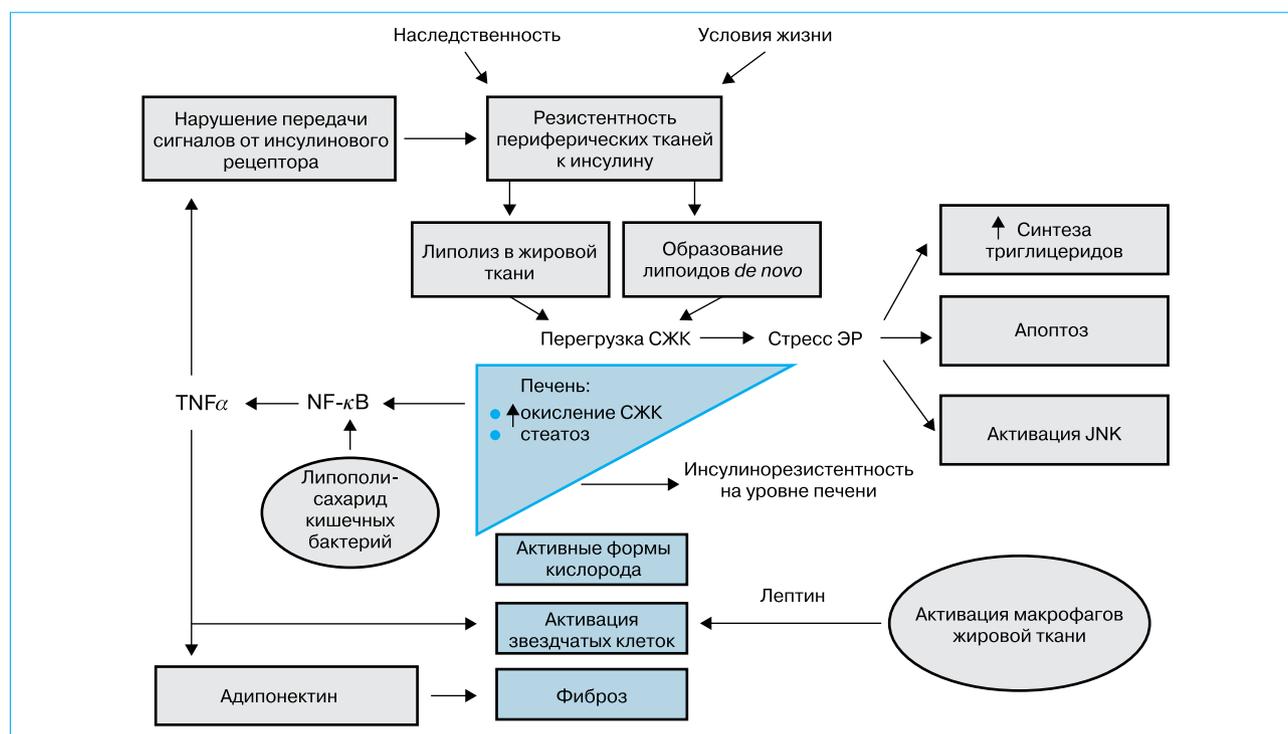


Рис. 3. Патогенез НАЖБП (по Cheung O., Sanyal A.J., 2010 [12], с изменениями).

Инсулинорезистентность на уровне периферических тканей (жировой ткани и скелетных мышц) сопровождается повышением доставки свободных жирных кислот к печени. Нарушение баланса между поступлением, образованием СЖК *de novo* и их окислением в гепатоцитах влияет на развитие жировой дистрофии. Выработка активных форм кислорода при окислении СЖК способствует реализации апоптоза гепатоцитов, развитию воспалительного ответа, активации звездчатых клеток печени и прогрессированию фиброза. Активация ядерного фактора транскрипции-κB (NF-κB) под влиянием активных форм кислорода и липополисахарида кишечных бактерий способствует продукции провоспалительных цитокинов, в частности TNFα. Перегрузка гепатоцитов СЖК сопровождается также стрессом ЭР, активацией Jip-киназы (JNK) и программированной гибелью клетки. Жировая ткань, секретирующая адипокины (лептин, адипонектин и др.), принимает участие в регуляции этих процессов. Адипонектин проявляет противовоспалительные свойства и уменьшает выраженность стеатоза, его секреция отчасти контролируется TNFα

увеличивать скорость окисления СЖК [2]. Представляется перспективным исследование влияния на течение НАЖБП гемфиброзила – мало-токсичного производного клофибрата.

Статины подавляют синтез холестерина в печени и вторично повышают плотность рецепторов к липопротеидам низкой плотности на гепатоцитах; кроме того, в различной степени они угнетают сборку и секрецию ЛПОНП в кровотоке. В ряде исследований показано, что терапия статинами способствует улучшению гистологической картины при НАЖБП.

Заключение

Таким образом, в последние годы складывается научное направление, объясняющее повреждение клеточных органелл при НАЖБП токсическим влиянием избытка насыщенных жирных кислот. При этом в гепатоцитах наблюдается изменение

активности некоторых ферментов и регуляторных молекул, что в целом повышает проапоптотический потенциал.

Липоапоптоз рассматривается как кардинальный признак НАЖБП, а СЖК – как активаторы запрограммированной гибели гепатоцитов. В рамках «липотоксического стресса» достаточно отчетливо показана роль генетической предрасположенности.

Вместе с тем не все аспекты теории «липотоксичности» нашли сегодня объяснение. В патогенезе НАЖБП важную роль играют также другие повреждающие факторы, такие как окислительный стресс и др., поэтому в настоящее время правомерно существование теории «множественных параллельных толчков» (рис. 3).

Дальнейшее изучение молекулярных событий при липотоксическом стрессе, возможно, откроет новую страницу в лечении жировой болезни печени.

Список литературы*

- Интернет-сайт URL: http://www.erudition.ru/referat/printref/id.57490_1.html – 12 июля 2011г.
- Internet- site URL: http://www.erudition.ru/referat/printref/id.57490_1.html - July, 12 2011.
- Интернет-сайт URL: <http://www.medbiol.ru> – 12 июля 2011г.
- Internet-site URL: <http://www.medbiol.ru> – July, 12 2011
- Albano E, Mottaran E, Vidali M*, et al. Immune response towards lipid peroxidation products as a predictor of progression of non-alcoholic fatty liver disease to advanced fibrosis. *Gut*. 2005; 54(7): 987–93.
- Allard JP, Aghdassi E, Mohammed S*, et al. Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in non-alcoholic fatty liver (NAFLD): a cross-sectional study. *J Hepatol*. 2008; 48(2): 300–7.
- Barreyro FJ, Kobayashi S, Bronk SF*, et al. Transcriptional regulation of Bim by FoxO3a mediates hepatocyte lipopapoptosis. *J Biol Chem*. 2007; 282(37): 27141–54.
- Caballero F, Fernández A, Matías N*, et al. Specific contribution of methionine and choline in nutritional nonalcoholic steatohepatitis: impact on mitochondrial S-adenosyl-L-methionine and glutathione. *J Biol Chem*. 2010; 285(24): 18528–36.
- Cazanave S, Gores G*. Mechanisms and clinical implications of hepatocyte lipopapoptosis. *Clin Lipidol*. 2010; 5(1): 71–85.
- Chalasani N, Deeg MA, Crabb DW*. Systemic levels of lipid peroxidation and its metabolic and dietary correlates in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2004; 99(8): 1497–502.
- Chamulitrat W, Burhenne J, Rehlen T*, et al. Bile salt-phospholipid conjugate ursodeoxycholy lyposphatidylethanolamide as a hepatoprotective agent. *Hepatology*. 2009; 50(1): 143–54.
- Charlton M, Viker K, Krishnan A*, et al. Differential expression of lumican and fatty acid binding protein-1: new insights into the histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009; 49(4): 1375–84.
- Chavin KD, Yang S, Lin HZ*, et al. Obesity induces expression of uncoupling protein-2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion. *J Biol Chem*. 1999; 274: 5692–700.
- Cheung O, Sanyal AJ*. Recent Advances in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2010; 26(3): 202–8.
- Chtioui H, Semela D, Ledermann M*, et al. Expression and activity of the cytochrome P450 2E1 in patients with nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. *Liver Int*. 2007; 27(6):764–71.
- Cusi K*. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2009; 13(4): 545–63.
- Czaja MJ*. The future of GI and liver research: editorial perspectives. III. JNK/AP-1 regulation of hepatocyte death. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003; 284(6):875–9.
- Davaail S, Rideau N, Bernadet MD*, et al. Effects of dietary fructose on liver steatosis in overfed mule ducks. *Horm Metab Res*. 2005; 37(1): 32–5.
- Day CP, James OF*. Steatohepatitis: a tale of two «hits»? *Gastroenterology*. 1998; 114: 842–45.
- de Almeida IT, Cortez-Pinto H, Fidalgo G*, et al. Plasma total and free fatty acids composition in human non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Nutr*. 2002; 21(3): 219–23.
- Desvergne B*. PPARs special issue: anchoring the present to explore the future. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1771(8): 913–4.
- Diraison F, Moulin P, Beylot M*. Contribution of hepatic de novo lipogenesis and re-esterification of plasma non esterified fatty acids to plasma triglyceride synthesis during non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab*. 2003; 29(5): 478–85.
- Dong H, Wang J, Li C*, et al. The phosphatidylethanolamine N-methyltransferase gene V175M single nucleotide polymorphism confers the susceptibility to NASH in Japanese population. *J Hepatol*. 2007; 46(5): 915–20.
- Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ*, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2005; 115(5): 1343–51.
- Dufour JF, Oneta CM, Gonvers JJ*, et al. Randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with vitamin E in nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006; 4(12): 1537–43.
- Echtay KS, Murphy MP, Smith RA*, et al. Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein 2 from the matrix side. Studies using targeted antioxidants. *J Biol Chem*. 2002; 277.
- Feldstein AE, Canbay A, Angulo P*, et al. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of

- human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2003; 125(2): 437–43.
26. *Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al.* Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology*. 2004; 40(1): 185–94.
 27. *Feldstein AE, Werneburg NW, Li Z, et al.* Bax inhibition protects against free fatty acid-induced lysosomal permeabilization. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006; 290(6): 1339–46.
 28. *Flamment M, Kammoun HL, Hainault I, et al.* Endoplasmic reticulum stress: a new actor in the development of hepatic steatosis. *Curr Opin Lipidol*. 2010; 21 (Issue 3): 239–46.
 29. *Fromenty B, Robin MA, Igoudjil A, et al.* The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. *Diabetes Metab*. 2004; 30(2): 121–38.
 30. *Haddad Y, Vallerand D, Brault A, Haddad PS.* Antioxidant and hepatoprotective effects of silibinin in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2009 Nov 1. [Epub ahead of print – www.pubmed.com].
 31. *Hardwick JP, Osei-Hyiaman D, Wiland H, et al.* PPAR/RXR regulation of fatty acid metabolism and fatty acid ω -hydroxylase (CYP4) isozymes: Implications for prevention of lipotoxicity in fatty liver disease. *PPAR Res*. 2009; 9527–34.
 32. *Herrera E, Barbas C.* Vitamin E: Action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem*. 2001; 57: 43–56.
 33. *Ikura Y, Ohsawa M, Suekane T, et al.* Localization of oxidized phosphatidylcholine in nonalcoholic fatty liver disease: impact on disease progression. *Hepatology*. 2006; 43(3): 506–14.
 34. *Kalhan SC, Edmison J, Marczewski S, et al.* Methionine and protein metabolism in non-alcoholic steatohepatitis: evidence for lower rate of transmethylation of methionine. *Clin Sci (Lond)*. 2011; 121(4): 179–89.
 35. *Kidd P, Head K.* A review of the bioavailability and clinical efficacy of milk thistle phytosome: a silybin-phosphatidylcholine complex (Siliphos). *Altern Med Rev*. 2005; 10: 193–203.
 36. *Kodama Y, Brenner DA.* C-Jun N-terminal kinase signaling in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease: multiple roles in multiple steps. *Hepatology*. 2009; 49(1): 6–8.
 37. *Leclercq IA, Farrell GC, Field J, et al.* CYP2E1 and CYP4A as microsomal catalysts of lipid peroxides in murine nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Invest*. 2000; 105:1067–75.
 38. *Li Z, Berk M, McIntyre TM, et al.* The lysosomal-mitochondrial axis in free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity. *Hepatology*. 2008; 47(5): 1495–503.
 39. *Li ZZ, Berk M, McIntyre TM, et al.* Hepatic lipid partitioning and liver damage in nonalcoholic fatty liver disease: role of stearoyl-CoA desaturase. *J Biol Chem*. 2009; 284(9): 5637–44.
 40. *Lieber CS.* The discovery of the microsomal ethanol oxidizing system and its physiologic and pathologic role. *Drug Metab Rev*. 2004; 36(3–4): 511–29.
 41. *Listenberger LL, Han X, Lewis SE, et al.* Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(6): 3077–82.
 42. *Madan K, Bhardwaj P, Thareja S, et al.* A. Oxidant stress and antioxidant status among patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Clin Gastroenterol*. 2006; 40(10): 930–35.
 43. *Makeham MA, Dovey SM, County M, Kidd MR.* An international taxonomy for errors in general practice: a pilot study. *Med J Aust*. 2002; 177: 68–72.
 44. *Malhi H, Bronk SF, Werneburg NW, et al.* Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem*. 2006; 281(17): 12093–101.
 45. *Malhi H, Gores GJ.* Molecular mechanisms of lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2008; 28(4): 360–9.
 46. *Manna SK, Mukhopadhyay A, Van NT, Aggarwal BB.* Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF-kappa B, c-Jun N-terminal kinase, and apoptosis. *J Immunol*. 1999; 163: 6800–9.
 47. *Mari M, Caballero F, Colell A, et al.* Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF- and Fas-mediated steatohepatitis. *Cell Metab*. 2006; 4(3): 185–98.
 48. *Mas E, Danjoux M, Garcia V, et al.* IL-6 deficiency attenuates murine diet-induced non-alcoholic steatohepatitis. *PLoS One*. 2009; 4(11): 792–9.
 49. *McClain CJ, Mokshagundam SP, Barve SS, et al.* Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. *Alcohol*. 2004; 34: 67–79.
 50. *Mu YM, Yanase T, Nishi Y, et al.* Saturated FFAs, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis in human granulosa cells. *Endocrinology*. 2001; 142(8): 3590–7.
 51. *Nair J, Sriwatanakul P, Haas C, et al.* High urinary excretion of lipid peroxidation-derived DNA damage in patients with cancer-prone liver diseases. *Mutat Res*. 2010; 683: 23–8.
 52. *Neuschwander-Tetri BA.* Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology*. 2010; 52(2): 774–88.
 53. *Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, et al.* Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008; 48(6): 993–9.
 54. *Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, et al.* Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and Type 2 diabetes. *Science*. 2004; 306(5695): 457–61.
 55. *Ozcan U, Yilmaz E, Ozcan L, et al.* Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of Type 2 diabetes. *Science*. 2006; 313(5790): 1137–40.
 56. *Paris F, Grassme H, Cremesti A, et al.* Natural ceramide reverses Fas resistance of acid sphingomyelinase^{-/-} hepatocytes. *J Biol Chem*. 2001; 276(11): 8297–305.
 57. *Parrino J, Hotchkiss RS, Bray M.* Prevention of immune cell apoptosis as potential therapeutic strategy for severe infections. *Emerging Infect Dis*. 2007; 13(2): 191–8.
 58. *Perlemuter G, Davit-Spraul A, Cosson C, et al.* Increase in liver antioxidant enzyme activities in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2005; 25(5): 946–53.
 59. *Pessayre D.* Role of mitochondria in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22 suppl 1: 20–7.
 60. *Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C.* Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Curr Mol Med*. 2009; 9(3): 299–314.
 61. *Puri P, Baillie RA, Wiest MM, et al.* A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2007; 46(4): 1081–90.
 62. *Puri P, Wiest MM, Cheung O, et al.* The plasma lipidomic signature of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2009; 50(6): 1827–38.
 63. *Robertson G, Leclercq I, Farrell GC.* Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. II. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001; 281(5): 1135–9.
 64. *Sakurai K, Cederbaum AI.* Oxidative stress and cytotoxicity induced by ferric-nitrosylacetate in HepG2 cells that express cytochrome P450 2E1. *Mol Pharmacol*. 1998; 54: 1024–35.
 65. *Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al.* Non-alcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*. 2001; 120(5): 1183–92.
 66. *Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, et al.* Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010; 362(18): 1675–85.
 67. *Schroeder F, Petrescu AD, Huang H, et al.* Role of fatty acid binding proteins and long chain fatty acids in modulating nuclear receptors and gene transcription. *Lipids*. 2008; 43(1): 1–17.

68. *Seki S, Kitada T, Sakaguchi H.* Clinicopathological significance of oxidative cellular damage in non-alcoholic fatty liver diseases. *Hepatol Res.* 2005; 33(2): 132–4.
69. *Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S.* Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 803–6.
70. *Singh R, Wang Y, Xiang Y,* et al. Differential effects of JNK1 and JNK2 inhibition on murine steatohepatitis and insulin resistance. *Hepatology.* 2009; 49(1): 87–96.
71. *Sugden MC, Holness MJ.* Role of nuclear receptors in the modulation of insulin secretion in lipid-induced insulin resistance. *Biochem Soc Trans.* 2008; 36(5): 891–900.
72. *Sugden MC, Zariwala MG, Holness MJ.* PPARs and the orchestration of metabolic fuel selection. *Pharmacol Res.* 2009; 60(3): 141–50.
73. *Svegliati-Baroni G, Candelaresi C, Saccomanno S,* et al. A model of insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis in rats: role of peroxisome proliferator-activated receptor- α and n-3 polyunsaturated fatty acid treatment on liver injury. *Am J Pathol.* 2006; 169(3): 846–60.
74. *Syn WK, Yang L, Chiang DJ,* et al. Genetic differences in oxidative stress and inflammatory responses to diet-induced obesity do not alter liver fibrosis in mice. *Liver Int.* 2009; 29(8): 1262–72.
75. *Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ.* Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9(3): 231–41.
76. *Tilg H, Moschen AR.* Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology.* 2010; 52(5): 1836–46.
77. *Úrano F, Wang X, Bertolotti A,* et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science.* 2000; 287(5453): 664–6.
78. *Wang D, Wei Y, Pagliassotti MJ.* Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis. *Endocrinology.* 2006; 147(2): 943–51.
79. *Wang XG, Lin B, Kidder JM,* et al. Effects of environmental changes on expression of the oligopeptide permease (opp) genes of *Borrelia burgdorferi*. *J Bacteriol.* 2002; 184: 6198–206.
80. *Weltman MD, Farrell GC, Hall P,* et al. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 1998; 27(1): 128–33.
81. *Witek RP, Stone WC, Karaca FG,* et al. Pan-caspase inhibitor VX-166 reduces fibrosis in an animal model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2009; 50(5): 1421–30.
82. *Yamaguchi H, Wang HG.* CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells. *J Biol Chem.* 2004; 279(44): 45495–502.
83. *Yamaguchi K, Yang L, McCall S,* et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2007; 45(6): 1366–74.
84. *Yamamoto K, Ichijo H, Korsmeyer SJ.* BCL-2 is phosphorylated and inactivated by an ASK1/Jun N-terminal protein kinase pathway normally activated at G(2)/M. *Mol Cell Biol.* 1999; 19(12): 8469–78.
85. *Younossi ZM, Jarrar M, Nugent C,* et al. A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Obes Surg.* 2008; 18(11): 1430–37.