

УДК 616.36-092

Ядерные рецепторы и патология печени*

Часть 2-я

В.Т. Ивашкин

(Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова)

Nuclear receptors and liver disease (the Part 2)

V.T. Ivashkin

Желчные кислоты в патогенезе заболеваний печени

Желчные кислоты (ЖК) представляют собой физиологические детергенты, которые обеспечивают пассаж желчи и облегчают кишечную абсорбцию и транспорт липидов, нутриентов и витаминов. Они выступают также как сигнальные молекулы и провоспалительные агенты, действующие посредством активации ЯР и сложной сети клеточных сигнальных путей, которые участвуют в регуляции метаболизма жиров и углеводов. Эти кислоты являются конечным продуктом катаболизма холестерина (J.Y. Chiang, 2004). В одной только печени в синтез ЖК вовлечены все 15 энзимов, которые осуществляют реакции начиная с модификации стерольного кольца путем гидроксирования, эпипляризации и изомеризации с последующим окислительным отщеплением боковой цепи стерола.

Желчные кислоты представляют собой амфипатические молекулы, которые несут все гидроксильные и карбоксильные группы на одной стороне молекул и карбонильные — на другой. Повышение растворимости ЖК достигается их конъюгированием с аминокислотой глицином или таурином. У человека большинство ЖК конъюгировано с глицином, тогда как у животных, например у мышей, доминируют тауриновые конъюгаты.

При классическом биосинтезе первым и единственным энзимом, лимитирующим скорость

синтеза желчных кислот, служит холестерол 7 α -гидроксилаза (CYP7A1). В результате последующих превращений конечными продуктами оказываются две первичные ЖК — *холевая кислота* (ХК) и *хенодезоксихолевая кислота* (ХДХК). Отношение ХК и ХДХК определяется активностью энзима *стерол 12 α -гидроксилазы* (CYP8B1), который необходим для синтеза ХК. Митохондриальный энзим *стерол 27-гидроксилаза* (CYP27A1) катализирует окисление боковой цепи стерола, что ведет к отщеплению в пероксисомах 3-карбонильного остатка и образованию C24 желчных кислот. Альтернативный (кислотный) путь синтеза ЖК инициируется энзимом CYP27A, который непосредственно гидроксилирует холестерин. Далее следует этап, зависимый от энзима *оксистерол 7 α -гидроксилазы* (CYP7B1). Гидроксилированные стеролы превращаются в печени в желчные кислоты. Существуют два минорных пути гидроксирования холестерина — зависимый от 25-гидроксилазы в макрофагах и зависимый от 24-гидроксилазы в головном мозге. Конъюгированные с глицином ЖК становятся доступными для секреции в желчь.

Желчные кислоты (соли желчных кислот) аккумулируются в желчном пузыре. После каждого приема пищи они поступают в кишечник для участия в абсорбции жиров и жирорастворимых витаминов. ХК и ХДХК под действием кишечной бактериальной 7 α -дегидроксилазы превращаются соответственно в *дезоксихолевою кислоту* (ДХК) и ЛХК. Часть желчных кислот реабсорбируется

* Продолжение. Начало статьи см. в № 3 журнала за 2010 год.

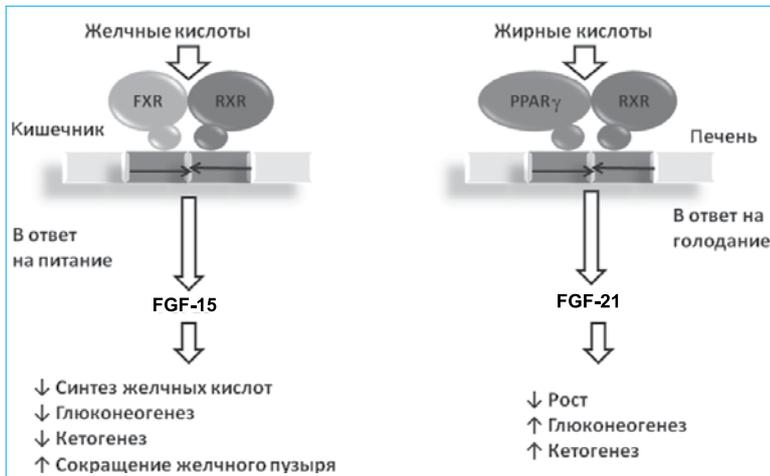


Рис. 4. Эндокринный FGF-сигнал.

Факторы роста фибробластов, FGF-15 и FGF-21 функционируют как эндокринные гормоны и регулируют активность печени в зависимости от нутритивного статуса. Образование FGF-21 индуцируется в печени в межпищеварительный период пероксисомным пролифератор-активируемым рецептором альфа (PPAR-α). Регуляторно-метаболический путь с участием PPAR-α и FGF-21 играет важную роль в инициации и координации системного ответа на голодание. FGF-21 стимулирует в печени окисление жирных кислот, кетогенез, глюконеогенез, угнетает рост клеток и тканей. Родственный гормон FGF-15 выступает как важный постпрандиальный гормон. Синтез FGF-15 индуцируется в тонкой кишке, затем он поступает в системную циркуляцию и действует как фактор, угнетающий синтез желчных кислот, стимулирующий наполнение желчного пузыря желчью, ингибирует в печени окисление желчных кислот и глюконеогенез

в терминальном отделе подвздошной кишки и по портальному кровотоку транспортируется в печень, где оказывает тормозящее действие на собственный синтез (гепатоинтестинальная, энтерогепатическая или печеночно-кишечная циркуляция ЖК). Около 5% из них (0,5 г/день) выводится с калом и замещается вновь синтезированными кислотами.

Пул ЖК у человека представлен примерно в равных количествах высокогидрофобными желчными кислотами – ХК, ХДХК и ДХК. Напротив, у мышей он высокогидрофилен и представлен мурихоловыми кислотами (получаемыми из ХДХК) и ХК. Желчные кислоты непосредственно вовлечены в сохранение физиологического соотношения между кишечными бактериальными комменсалами и в регуляцию морфофункциональных превращений компонентов слизистой оболочки кишечника.

Активируемый желчными кислотами FXR занимает центральное место в регуляции синтеза, экскреции и транспорта ЖК. Гидрофобные желчные кислоты, например ХДХК, выступают как эффективные лиганды FXR. Этим качеством не обладают гидрофильные желчные кислоты, в частности, такие как мурихоловые и *урсодезоксихолевая кислота* (УДХК). FXR активирует экспортную помпу желчных кислот (BSEP), которая осуществляет их трансмембранный транспорт

в желчь. В подвздошной кишке FXR на апикальной мембране эпителиоцитов индуцирует синтез протеина, связывающего ЖК (*Intestinal bile acid binding protein* – IBABP), а на базолатеральной мембране – синтез *транспортера органических растворов* (OSTα/β; *organic solute transporter*). Оба транспортера осуществляют трансцеллюлярный перенос ЖК из просвета кишечника в систему воротной циркуляции и в печень. Кишечно-печеночная циркуляция ЖК тормозит их образование посредством двух механизмов.

Первый механизм (рис. 4): активируемый желчными кислотами FXR индуцирует синтез *short heterodimer partner* (SHP), который затем подавляет активирующее действие *фактора транскрипции α-фетопротеина* (FTF), связанного с промотором CYP7A1. Это в конечном счете приводит к ингибированию транскрипции гена CYP7A1. На метаболическом уровне данный процесс проявляется выключением активности холестерол 7α-дегидроксилазы-лимитирующего фермента, способствующего синтезу ЖК. Механизм торможения образования желчных кислот может и не требовать индукции гена SHP и, следовательно, в ряде ситуаций рассматривается как независимый от SHP путь регуляции синтеза ЖК.

Для ингибирования транскрипции гена CYP7A1 в этом случае не требуется и индукция гена гомолого-1-печеночного рецептора (LRH-1). Орфановый ЯР – HNF4α – имеет ключевое значение для синтеза и конъюгации желчных кислот (Y.K. Lee и соавт., 2008). Он связывается с промоторами генов CYP7A1, CYP8B1 и CYP27A1, экспрессирующими холестерол 7α-дегидроксилазу, стерол 7α-дегидроксилазу и стерол 27-дегидроксилазу соответственно. FTF может конкурировать с HNF4α за связывающие места на промоторе и ингибировать транскрипцию генов CYP7A1 и CYP8B1. HNF4α рассматривается как наиболее доступный ЯР, экспрессируемый в печени, который выполняет важную функцию в регуляции метаболизма ЖК, липопротеинов и глюкозы.

Второй механизм (рис. 5) торможения синтеза желчных кислот включает индукцию с помощью FXR гена FGF15/19 (*fibroblast growth factor*). Этот фактор активирует сигнальный путь, контролируемый печеночным ЯР FGFR4, с последующим ингибированием экспрессии CYP7A1 (T. Inagaki и соавт., 2005). Сигналы от FGFR4 могут ингибировать экспрессию гена CYP7A1 также путем активации Янус-киназы (JNK) – J.A. Holt и соавт. (2003). Вместе с тем до конца не раскрыты другие факторы, участвующие в

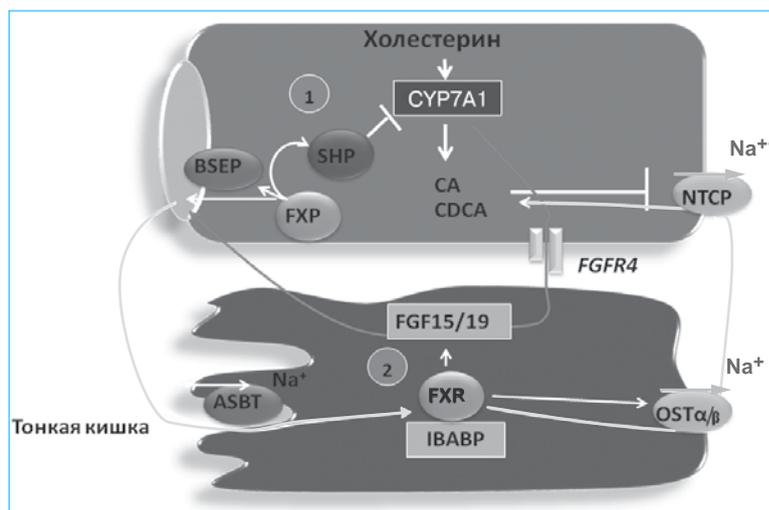


Рис. 5. Механизм FXR регуляции CYP7A1

Желчные кислоты реабсорбируются в подвздошной кишке, где они активируют ядерный FXR рецептор, который, в свою очередь, стимулирует белок IBABP. Этот цитозольный белок участвует в транскрипции FXR и синтезе желчных кислот. CYP7A1 — холестерин-7- α -гидроксилаза катализирует первый этап синтеза желчных кислот — гидроксилирование холестерина. Механизм торможения синтеза желчных кислот может протекать с участием гена FGF 15/19 (fibroblast growth factor). Этот фактор активирует сигнальный путь, контролируемый печеночным FGFR4 с последующим ингибированием CYP7A1. Мощные лиганды для активации FXR — желчные кислоты. Ряд исследований продемонстрировали, что SHP и BSEP угнетают активность FXR. Кроме того, сигналы от FGFR4 могут ингибировать экспрессию гена CYP7A1 путем активации JNK

FGF19/FGFR4-регулируемом каскаде. Активация FGFR4 посредством FGF19 требует участия KoP, β -Klotho, который вовлечен в регуляцию активности гена CYP7A1 (S. Ito и соавт., 2005). В гепатоцитах человека ЖК индуцируют синтез FGF19, который повышает активность протеинкиназы (MAPK)/ERKS, что приводит к ингибированию транскрипции гена CYP7A1. Вместе с тем FGF19 не влияет на репортерную (передаточную) активность CYP7A1. Возможно, что FGF19 регулирует CYP7A1 с помощью посттрансляционного механизма. Привлекает внимание факт, что ХДХК, GW4064 и FGF19 индуцируют экспрессию молекул микро-РНК (mRNA) CYP7A1 посредством связывания микро-РНК с распознающими последовательностями, локализованными на 3'UTR матричной РНК гена CYP7A1. Антагонисты мРНК могут обладать терапевтическим потенциалом в отношении снижения уровня холестерина крови (J.Y.L. Chiang, 2009).

Холестаза определяют как снижение или прекращение секреции и экстррузии желчи, что сопровождается ретенцией широкого спектра веществ, которые в физиологических условиях секретируются в желчь. Аккумуляция в печени цитотоксических холефилов, таких как желчные кислоты, может вызвать ее повреждение и последующее развитие цирроза. При холестазе активируются различные адаптивные механизмы, направленные на противодействие повреждениям печени.

Протективные механизмы включают изменения транспорта, синтеза и детоксикации ЖК. Ограничение как захвата печенью желчных кислот, так и их синтеза *de novo* позволяет уменьшить перегрузку ими органа. Ключевые базолатеральные системы захвата ЖК включают продукты генов NTCP (natrium taurocholol co-transporting protein) и OATP1B1 (organic anion transporting protein), а также гена CYP7A1. Последний ген экспрессирует фермент холестерин-7- α -гидроксилазу, лимитирующий синтез ЖК. Данные системы существенно угнетаются при холестазе (G. Zollner, 2009; В.Т. Ивашкин, Е.Н. Широкова, 2009). В то же время существенно возрастает отток желчных кислот из гепатоцитов через базолатеральную мембрану. Этот альтернативный (или «ретроградный») базолатеральный экспорт ЖК осуществляется транспортными протеинами, ассоциированными с мультилекарственной резистентностью MRP3, MRP4 (multidrug resistance-associated proteins), и гетеромерным транспортером органических растворов OST α/β . В физиологических условиях эти экспортные системы незначи-

тельно экспрессируются на базолатеральной мембране, однако их экспрессия резко возрастает при холестазе. «Ретроградный» экспорт желчных кислот, осуществляемый через базолатеральную мембрану в синусоиды и далее в системный кровоток, сопровождается их экскрецией с мочой, что создает альтернативный путь элиминации ЖК из организма. Необходимым условием почечного клиренса служит повышение водной растворимости гидрофобных желчных кислот, что существенно уменьшает их токсичность. Этот процесс осуществляется в фазу I (гидроксилирование посредством продукта гена CYP3A4) и в фазу II энзимной детоксикации (конъюгирование с сульфатом посредством продукта гена SULT2A1 или с глюкуроновой кислотой посредством продуктов генов UGT2B4 и UGT2B7). Продуктами указанных генов служат ферменты сульфат трансферазы и уридин глюкуронил трансферазы I и II соответственно (G. Zollner, 2009).

В последние годы стали более понятными молекулярные механизмы регуляции энзимов, вовлеченных в метаболизм и транспорт желчных кислот (см. рис. 4). В комплексную регуляторную сеть вовлечены ЯР и факторы транскрипции, которые оказались ключевыми элементами в адапционных реакциях на холестаз. В настоящее время FXR, PXR и рецептор витамина D (VDR) идентифицированы как ядерные рецепторы ЖК. FXR служит главным регулятором молекуляр-

ной адаптации к холестазу. Этот рецептор контролирует захват, синтез, метаболизм и экспорт ЖК. Активируемый желчными кислотами FXR индуцирует ядерный рецептор SHP, который, в свою очередь, угнетает захват ЖК через базолатеральную мембрану и тормозит их синтез посредством подавления активности NTCP и CYP7A1 соответственно. В период холестаза FXR не только лимитирует ортоградный дебит желчных кислот посредством BSEP, но и контролирует их ретроградную базолатеральную секрецию посредством $OST\alpha/\beta$. Фаза I (CYP3A4) и фаза II (UGT2B4) детоксикации желчных кислот регулируются желчными кислотами посредством FXR. Более того, FXR влияет на регенерацию печени, карциногенез, воспаление и избыточный бактериальный рост в тонкой кишке. Все эти реакции служат важными проявлениями патогенеза или осложнений холестатических заболеваний.

Ксенобиотические рецепторы PXR и CAR участвуют в регуляции детоксикации желчных кислот и элиминации продуктов детоксикации из печени. Оба рецептора имеют ряд общих лигандов и регулируют группу общих генов. Они стимулируют детоксикацию посредством индукции CYP3A4 и SULT2A1 и последующий базолатеральный экспорт ЖК (рис. 6) через систему протеинов мультилекарственной резистентности MRP3 и MRP4. PXR наряду с FXR участвует также в развитии фибротических реакций в печени. VDR выступает как сенсор ЖК и как важный регулятор их транспорта и метаболизма в тонкой кишке, но одновременно играет существенную роль в реакциях I и II фаз детоксикации.

Адаптивные механизмы могут на некоторое время затормозить, но не в состоянии полностью воспрепятствовать развитию холестаза и повреждению печени, поэтому столь актуально создание антихолестатических препаратов. Рассматриваются варианты веществ, способных активировать различные ЯР. Лиганды PXR и CAR

стали применяться в лечении холестаза задолго до того, как было начато исследование механизмов их действия. В последнее время в клинических исследованиях испытываются агонисты FXR и PPAR в терапии *первичного билиарного цирроза* (ПБЦ). Лиганды VDR показали свою эффективность в экспериментальных моделях холестаза.

Переходя к анализу роли желчных кислот и ядерных рецепторов в репликации вирусов гепатита, следует отметить, что тропизм последних определяется экспрессией рецепторов на тканях-мишенях. При этом для эффективной репликации необходимы и другие клеточные компоненты вирусов. *Вирусы гепатитов B и C* (HBV и HCV) обладают узким тропизмом, ограниченным главным образом печенью, и ее специфические метаболические функции представляют собой существенные факторы, участвующие в регуляции репликации вирусов.

Регуляция транскрипции HBV осуществляется под контролем четырех промоторных (core, preS1, preS2/S и X) и двух энхенсорных (EN1 и EN2) участков вирусной ДНК. Активность core-промотора, опосредуемая EN2 областью, играет ключевую роль в жизненном цикле вируса: происходит инициация синтеза прегеномной РНК, которая кодирует как полимеразу, так и core-протеин, а также служит матрицей для синтеза вирусной ДНК. Идентифицировано несколько сайтов связывания факторов транскрипции на указанных регуляторных участках, в частности для ЯР, входящих в семейство лиганд-активируемых факторов транскрипции. В настоящее время полагают, что три ядерных рецептора (PPAR α , RXR α и HNF4 α), регулирующих core-промоторную активность, в значительной мере определяют ограниченный тропизм HBV. Идентифицированы два FXRE в генотипе HBV, узнаваемые FXR α (P. Andre, 2009). Первый FXRE локализуется в EN2 между 1682 и 1694 нуклеотидами HBV и узнается гетеродимерами FXR α -5-RXR α . Второй FXRE локализуется в core-промоторе и также связывает гетеродимеры FXR α -RXR. Функциональное значение этих двух участков FXRE состоит в том, что ЖК в биологических концентрациях активируют core-промотор HBV посредством FXR α . Этот эффект усиливается содействием RXR α , преимущественным партнером FXR α в реакции трансаактивации. Мутационный анализ связывания 1-го и 2-го сайтов FXR α смог подтвердить, что FXR α -индуцируемая активность core-промотора определяется обоими сайтами FXRE. Данное обстоятельство позволяет рассматривать их как цис-активирующие участки, ответственные за FXR α -индуцируемую активацию core-промотора HBV.

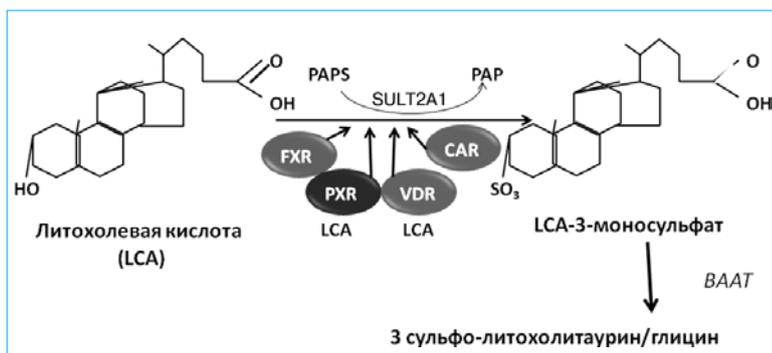


Рис. 6. Сульфаты желчных кислот в печени человека
Рецепторы FXR, PXR, VDR, CAR участвуют в регуляции детоксикации желчных кислот. Они стимулируют детоксикацию посредством индукции цитозольного белка сульфотрансферазы SULT2A1. Использование в этом механизме группы SO_3 -ферментов PAPS позволяет изменять полярность молекул желчных кислот, повышая их гидрофильность

Суммарный эффект активации FXR α желчными кислотами состоит в повышении транскрипции прегеномной РНК HBV и соответственно в потенцировании интенсивности репликации вирусной ДНК (С. Ramière и соавт., 2008).

Появились новые данные об оценке влияния желчных кислот на репликацию HCV. *Во-первых*, высокие уровни ЖК в крови оказались прогностическими маркерами, предсказывающими неэффективность противовирусной терапии, направленной на достижение устойчивого вирусологического ответа. В частности, концентрация ЖК выше 15 мМ в сочетании с уровнем ферритина выше 300 мг/мл оказались предикторами безуспешности терапии. *Во-вторых*, выяснилось, что циркулирующие частицы HCV взаимодействуют с липопротеинами и образуют гибридные липо-вирусные частицы. Эти гибридные молекулы образуются только в гепатоцитах и энтероцитах, т.е. в двух типах клеток, продуцирующих липопротеины и «купающихся» в желчных кислотах. ЖК, особенно хенодезоксихолат и дезоксихолат, увеличивают репликацию РНК 1-го генотипа HCV более чем в 10 раз (С. Scholtes и соавт., 2008).

Лишь свободные, но не конъюгированные ЖК оказывают подобный эффект. Это позволяет предполагать, что усиление репликации HCV опосредуется ядерным рецептором и не сопряженным с G-протеином мембранным рецептором TGR5. Только лиганды FXR α стимулируют репликацию HCV, и блокирование FXR α блокирует также и индукцию репликации HCV, инициируемую ЖК. Изменение репликации HCV лигандами FXR α осуществляется в равной пропорции при наличии или отсутствии интерферона I типа, что указывает на независимый от интерферона механизм контроля репликации РНК желчными кислотами. FXR α относится к ДНК-связывающим протеинам, в связи с чем вряд ли возможно его прямое взаимодействие с РНК HCV. Этот рецептор прямо или опосредованно регулирует различные гены, вовлеченные в метаболизм ЖК, холестерина, липидов и глюкозы. Поэтому, скорее всего, контроль репликации HCV осуществляется несколькими разными механизмами.

Становится очевидным, что FXR α и ЖК выступают как регуляторные факторы процесса репликации HBV и HCV. Метаболизм желчных кислот и тканевая экспрессия FXR α , вероятно, относятся к факторам, которые в определенной мере ограничивают тропизм этих двух вирусов, даже если механизм контроля вирусной репликации у них различается. FXR α применительно к HBV действует посредством FXRE в ключевых промоторных и энхансерных регионах вирусного генома, регулирует транскрипцию вирусной РНК и соответственно репликацию генома вирусной ДНК. Применительно к HCV механизм регуляции FXR α еще недостаточно ясен. Вероятно,

он включает комплексное изменение клеточного метаболизма глюкозы и липидов, которое переводит клетки в состояние, позволяющее осуществлять вирусную репликацию.

Как показано недавно в эксперименте, коактиватор 1 α пероксисомного пролифератор-активируемого рецептора γ (PGC1 α), усиливающий работу ряда факторов транскрипции, контролирующих энергетический и нутритивный гомеостаз, способствует репликации HCV. В соответствии с этим выдвинута концепция «метаболовируса» для описания регуляции репликации HBV (Schlomag A. Shaul; цит. по P. Andre, 2009). В модели метаболовируса регуляция транскрипции HBV опосредуется близкими друг к другу по характеру нутритивными сигналами, исходящими от печеночных метаболических генов, таких как PEPCK и GGPase. Последние вовлечены в регуляцию глюконеогенеза. При голодании индуцируется образование PGC1 α , который коактивирует HNF4 α . Это приводит к усилению репликации HBV. Интересно, что PGC1 α известен также как коактиватор FXR α и стимулятор экспрессии генов-мишеней для FXR α . В ответ на кратковременное голодание, когда PPAR α и HNF4 α стимулируют β -окисление и глюконеогенез соответственно, FXR α уменьшает продукцию и секрецию триглицеридов, а также регулирует глюконеогенез. На примере модели метаболовируса можно предположить, что желчные кислоты посредством FXR α вовлечены в метаболическую регуляцию репликации HBV и HCV.

Гепатотоксичность — один из наиболее частых побочных эффектов и один из важнейших факторов, определяющих вывод лекарственных средств с фармацевтического рынка. В качестве примеров можно привести тиазолидиндион троглитазон, ингибитор HMG-CoA редуктазы церивастатин, хинолон trovafloксацил и ингибитор циклооксигеназы-2 лимиракоксиб. К препаратам, способным индуцировать острое повреждение печени, относятся ацетаминофен, антимикробные агенты, *нестероидные противовоспалительные препараты* (НПВП), статины. Лекарства могут вызывать гепатит, холестаз или смешанную форму повреждения печени. Вместе с тем другие формы ее холестатического повреждения вызываются генетическими или приобретенными дефектами транспорта или метаболизма ЖК. Важным регулятором гомеостаза желчных кислот служит фарнезоидный X рецептор (J.J. Eloranta, G.A. Kullak-Ublick, 2008). FXR активируется хенодезоксихолевой кислотой и другими ЖК и угнетает *de novo* синтез желчных кислот на этапе превращения холестерина холестерол 7 α -гидроксилазой. Этот рецептор активирует элиминацию ЖК в желчь путем прямой индукции транскрипции гена экспортной помпы солей желчных кислот (BSEP, ABCB11). Системы захвата ЖК

угнетаются FXR опосредованно за счет негативно-го вмешательства репрессора транскрипции SHP с *глюкокортикоидным рецептором* (GR) в случае NTCP и с гепатоцитарным ядерным фактором 1 α (HNF1 α) в случае OATP1B1 (J.J. Eloranta и соавт., 2006). OATP1B1 служит системой захвата не только желчных кислот, но и различных лекарственных препаратов, включая гепатотоксические агенты, такие как статины и троглитазон (B. Hogenbuch, C. Gui, 2008).

FXR угнетает также опосредованно экспрессию других систем лекарственного захвата на базолатеральной мембране гепатоцитов, включая OCT1 (переносчик метформина, циметидина, ганцикловира и др.), OAT2 (НПВП, аналоги противовирусных нуклеозидов, антибиотики) и CNT1 (нуклеозидные аналоги). Эти три транспортера активируются HNF4 α на уровне генной транскрипции (M. Saborowski и соавт., 2006). SHP, индуцированный FXR, негативно влияет на трансактивацию генов через HNF4 α и тем самым тормозит синтез транспортеров и соответственно захват печенью транспортных субстратов.

Дефицит FXR сопровождается холестатическим повреждением печени при следующих условиях. *Во-первых*, при функциональных вариантах предрасположенности гена FXR к внутрипеченочному холестазу беременных. *Во-вторых*, при прогрессирующем семейном внутрипеченочном холестазе 1 типа (PFIC1; progressive familial intrahepatic cholestasis type 1), когда снижаются уровни мРНК фарнезоидного X рецептора и генов, трансактивируемых посредством FXR. Более того, дикий тип протеина FIC1 способствует транслокации FXR в ядро посредством последовательной цепи фосфорилирования протеинов, нацеленных на FXR. Это в целом указывает на возможность возникновения FIC1-ассоциированных болезней вследствие нарушенной способности генетических вариантов FIC1 индуцировать экспрессию и функцию FXR (T. Frankenberg и соавт., 2008). *В-третьих*, на модели FXR-/- мыши показано развитие печеночной аденомы и карциномы, и этот эффект потенцируется добавлением в корм 0,2% желчь кислоты (F. Yong и соавт., 2007). Следует отметить, что антихолестатическое действие УДХК под контролем FXR индуцирует гены таких переносчиков, как BSEP, MDR3 и MDR4 посредством независимо-го от FXR механизма (H.U. Marshall и соавт., 2007).

Помимо FXR в реакции защиты или усиления поражений печени вовлечены и другие ЯР. *Печеночный X рецептор α* (LXR α) в эксперименте оказывает противодействие холестатическому повреждению печени, вызываемому литохолевой кислотой или лигированием желчного протока (H. Uppal и соавт., 2007). В этой модели у животного усиливается экспрессия энзима

детоксикации желчных кислот *сульфотрансферазы 2a* (SULT2a) и ряда транспортеров ЖК. *Ядерный прегнаноный X рецептор* (PXR) оказывает защиту печени от повреждения холевой кислотой при сочетанном введении лиганда этого рецептора PCN. Последний активирует PXR и индуцирует экспрессию генов-мишеней PXR – MRP3 и CYP3a11 (S. Teng и соавт., 2007). В эксперименте показано угнетение экспрессии ЯР PPAR α при стеатогепатите, вызываемом ацетаминофеном (S. Donthamensetty и соавт., 2008). Предшествующее введение клофибрата, лиганда PPAR α , уменьшает повреждение печени благодаря ускорению восстановления ткани печени. Активация PPAR α сопровождается увеличением продукции NADPH и АТФ, необходимых для выживания клеток за счет компенсации повреждения митохондрий. Следует также отметить, что ядерный рецептор CAR (constitutive androstane receptor) индуцирует экспрессию энзимов, метаболизирующих ацетаминофен. Ингибирование активности CAR посредством введения андростанола блокирует гепатотоксичность ацетаминофена у животных с диким геном CAR, но не у животных с Car-/- (J. Zhang и соавт., 2002). Таким образом, ингибирование CAR может служить прототипом для разработок лекарственных средств, уменьшающих токсические эффекты ацетаминофена и других гепатотоксических агентов.

Лиганды ядерных рецепторов

Холангиопатии представлены гетерогенной группой генетических и приобретенных синдромов поражения билиарного тракта, и они имеют значимое социальное звучание ввиду тяжести клинического течения, высокой смертности и необходимости трансплантации печени. Холангиопатии охватывают синдромы и болезни разной этиологии и разного патогенеза – от иммунных (первичный билиарный цирроз и первичный склерозирующий холангит) до генетически детерминированных (кистозный фиброз, прогрессирующий семейный холестаз) и большую группу других, вызываемых инфекцией, сосудистыми и токсическими агентами (D. Alvaro и соавт., 2008). Наконец, следует учитывать рост неопластических холангиопатий, в частности холангиокарциному с ее очень плохим прогнозом. Холангиопатии в подавляющем большинстве случаев неуклонно прогрессируют в направлении дуктопении, т. е. такого осложнения, при котором исчезает более 50% междольковых желчных протоков и нарастают клинические симптомы холестатического синдрома (зуд, желтуха и т. д.). Первичной мишенью, поражаемой при холангиопатиях, служит популяция холангиоцитов – эпителиальных клеток, выстилающих билиарное дерево. Холангиоциты играют преимущественную роль в процессах образования желчи,

пролиферации, репарации повреждений, фиброза, ангиогенеза и регуляции кровотока (D. Alvaro и соавт., 2007).

В последнее десятилетие были идентифицированы различные подтипы ($ER\alpha$, $ER\beta$) эстрогеновых рецепторов (ER) на холангиоцитах, и эстрогены продемонстрировали себя как лиганды билиарного дерева, которые опосредуют пролиферативную и секреторную активность холангиоцитов. Специфически эстрогены активируют внутриклеточные сигнальные каскады, в частности ERKS (extracellular regulate kinases S) и P13-киназу/АКТ (phosphatidylinositol-3'kinase/АКТ), которые типичны для таких факторов роста, как *инсулиноподобный фактор роста* (IGF1), *фактор роста нервов* (NGF) и *васкулярный эндотелиальный фактор роста* (VEGF). Кроме того, эстрогены стимулируют секрецию различных факторов роста пролиферирующими холангиоцитами. В печени здорового человека холангиоциты не экспрессируют ER. Однако при ряде патологических состояний, включающих ПБЦ, поликистозную болезнь печени и холангиокарциному, посредством иммуногистохимического анализа удается показать экспрессию $ER\alpha$ и $ER\beta$ (D. Alvaro и соавт., 2006, 2008). Все эти заболевания характеризуются реактивной или неопластической пролиферацией холангиоцитов, что подтверждает участие эстрогенов и их рецепторов в опосредовании пролиферативной активности холангиоцитов в течении этих заболеваний.

Холангиоциты, выстилающие междольковые желчные протоки у больных ПБЦ, но не у здоровых лиц, экспрессируют $ER\alpha$ - и $ER\beta$ -подтипы. Экспрессия ER различается в разные стадии болезни и коррелирует с маркерами пролиферации (PCNA) и смерти (Tunel). Экспрессия $ER\alpha$ возрастает с 1% холангиоцитов при I стадии ПБЦ до 12% в стадии III, тогда как экспрессия $ER\beta$ оказывается стабильно высокой (50–65% холангиоцитов) на всех гистологических стадиях болезни. На стадиях I–III экспрессия $ER\alpha$ коррелирует и колокализуется с PCNA, что указывает на наличие экспрессии $ER\alpha$ как индикатора пролиферации холангиоцитов. Более того, на стадии IV ПБЦ, когда достигается максимальная выраженность дуктопении, холангиоциты прекращают экспрессировать $ER\alpha$. Одновременно наблюдается очень низкое отношение PCNA/Tunel. Это позволяет говорить о возможности возникновения относительной пролиферативной недостаточности холангиоцитов на финальной дуктопенической стадии ПБЦ, сопровождающейся исчезновением $ER\alpha$. В дополнение к этому следует отметить, что экспрессия $ER\alpha$ на холангиоцитах у пациентов с ПБЦ заметно ниже по сравнению с больными первичным склерозирующим холангитом и алкогольным циррозом.

У мужчин экспрессия $ER\alpha$ значительно выше, чем у женщин, косвенно указывая на то, что доминирование женщин при ПБЦ и типичный постменопаузальный клинический дебют могут быть связаны с дефектом пролиферативного ответа холангиоцитов на эстрогены.

Приведенные факты могут иметь важное клиническое приложение, поскольку регуляция эстрогеновых рецепторов может замедлять прогрессирование ПБЦ в направлении дуктопении. Например, показано, что тамоксифен (смешанный агонист/антагонист $ER\alpha$ и антагонист $ER\beta$) улучшает биохимические показатели холестаза при ПБЦ. Препарат может уменьшать проявления холестаза и посредством активации PXR, сопряженного с функциональной активностью цитохрома P450 и механизмами действия УДХК. Безусловно, при длительном применении тамоксифен обладает таким серьезным побочным эффектом, как повышение риска эндометриального рака. Вместе с тем препараты второго поколения (ралоксифен), у которых не отмечена способность к индукции пролиферации в репродуктивных тканях, способствуют нормализации биохимических показателей холестаза у пациентов с ПБЦ. При этом повышается минеральная плотность костей (D. Alvaro, 2009). Активация $ER\alpha$ опосредует многие другие положительные эффекты, в частности повышает иммунную толерантность при аутоиммунных заболеваниях, а также ингибирует экспрессию провоспалительных генов за счет задержки транслокации фактора NF-каппа в ядро.

Аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек (АДПБП) имеет частоту 1:800 индивидуумов. Кисты печени выступают наиболее частой экстрапочечной клинической манифестацией болезни и нередко служат причиной обращения к врачу. При АДПБП вероятность появления кист печени значительно выше у женщин — 92% среди всех пациентов, которым осуществляется трансплантация печени по поводу поликистозной болезни. Число и размеры кист возрастают при менопаузальной заместительной гормональной терапии. Причем у нерожавших женщин вероятность развития кист печени существенно ниже, чем у повторно рожавших, у которых масштаб кистозных изменений коррелирует с числом беременностей. Морфологическая и функциональная оценка эпителия кист печени у пациентов с АДПБП позволила иммуногистохимически обнаружить экспрессию ER, рецептора гормона роста, IGF1, IGF1-R, ядерного антигена клеточной пролиферации и pAKT. Эпителиальные клетки кист пролиферировали при экспозиции с 17β -эстрадиолом и IGF1. Антагонисты ER или IGF1-R ингибировали указанные пролиферативные эффекты. Эти данные позволяют рассматривать эпителий печеночных кист при АДПБП как ткань, реагирующую на эстрогены и факторы роста (IGF1, VEGF).

Их взаимодействие может определять патофизиологию поликистозного процесса.

Холангиокарцинома имеет плохой прогноз (5-летняя выживаемость 78% случаев и средняя продолжительность жизни с момента установления диагноза около 7 мес). Экспрессия ER α и ER β обнаруживается практически у всех пациентов с этой опухолью и отношении ER α /ER β существенно выше, чем в нормальных пролиферирующих холангиоцитах. Воздействие 17 β -эстрадиолом и IGF1 на культуру опухолевых холангиоцитов повышает экспрессию ER α , фосфорилирование CRJ-ERKS и pAKT, но снижает экспрессию ER β . Недавно показано, что эстрогены стимулируют рост холангиокарциномы посредством индукции синтеза и выхода VEGF из холангиоцитов холангиокарциномы (A. Mancino и соавт., 2008).

Таким образом, можно сделать заключение, что ER играют важную роль в регуляции функций холангиоцитов в процессе формирования и течения различных холангиопатий у человека. Поэтому подходы к фармакологической регуляции данных рецепторов могут оказаться перспективным направлением в лечении этих заболеваний.

Первичные ЖК — холевая и хенодесокси-холевая образуются в печени из холестерина, конъюгируются с глицином или таурином, что повышает их гидрофильность, и секретируются в желчь. В кишечнике обе кислоты под влиянием кишечной микрофлоры претерпевают 7 α -гидроксилирование и превращаются во вторичные ЖК — соответственно литохолевую и дезоксихолевую. В подвздошной кишке обе вторичные ЖК реабсорбируются и транспортируются в печень. ЖК не следует рассматривать лишь в качестве простых катаболитов холестерина, в реальности они выступают как истинные регуляторные молекулы со своими специфическими рецепторами.

ЖК контролируют экспрессию генов посредством *фарнезоидного X рецептора α* (FXR α). Этот рецептор первично экспрессируется в печени и кишечнике и активируется ЖК. Он трансактивирует ряд генов, вовлеченных в метаболизм холестерина и желчных кислот. Определено несколько групп печеночных генов-мишеней для FXR α : первая группа снижает внутриклеточную концентрацию ЖК посредством уменьшения их синтеза и увеличения экспорта; вторая — опосредует уровень сывороточных липопротеинов и снижает плазменные концентрации триглицеридов. FXR α связывается в форме гетеродимера вместе с *ретиноидным X рецептором α* (RXR α) к участкам ДНК, называемым элементами ответа FXR α (FXRE). ЖК активируют также MAPK-зависимые пути регуляции посредством сопряженного с G-белком мембранного рецептора TGR5. Последний повышает внутриклеточный уровень AMP и тем самым ингибирует активацию STAT1 интерфероном I типа.

Перспективы в создании новых лечебных технологий

Данные о применении активаторов ядерных рецепторов в лечении заболеваний печени пока ограничены, но число исследований в этой области возрастает. Вероятно, это клиническое поле будет быстро расширяться по мере открытия новых агентов и осмысления данных, получаемых в эксперименте на животных. Перечень описываемых ядерных рецепторов растет из месяца в месяц. В список ЯР, относительно которых пока нет сведений о их возможной роли при заболеваниях печени, входят: печеночный X рецептор (LXR), рецептор ретиноевой кислоты (RAR) и рецептор витамина D (VDR). Имеются данные о рецепторах активации пероксисомной пролиферации (PPAR γ и PPAR α), конститутивном андростановом рецепторе (CAR), прегнановом X рецепторе (PXR) и фарнезоидном X рецепторе (FXR).

Среди модификаторов ядерных рецепторов, участие которых наиболее изучено в патогенезе заболеваний печени, выделяются агонисты PPAR γ . Их роли при неалкогольной жировой болезни печени придают сегодня большое значение. Три из них исследованы в клинике: трозиглитазон, розиглитазон и пиоглитазон. Агонисты PPAR γ уменьшают доставку жирных кислот из жировой ткани в печень, ускоряют β -окисление жирных кислот, повышают уровень адипонектина, угнетают продукцию провоспалительных цитокинов и с определенной вероятностью активацию стеллатных клеток. Все эти эффекты могут оказывать положительное влияние при различных заболеваниях печени, но в основном при НАЖБП.

Трозиглитазон снят в настоящее время с фармакологического рынка ввиду обнаруженной гепатотоксичности. Розиглитазон у пациентов с НАСГ снижал степень выраженности стеатоза, временно уменьшал активность АсАТ и АлАТ, но не оказывал положительного влияния на процесс фиброза. Среди побочных эффектов зарегистрированы значимая прибавка в массе тела, возрастание риска развития инфаркта миокарда и снижение костной массы. Пиоглитазон приводил у пациентов с НАСГ к снижению активности трансаминаз, умеренному подавлению активности лобулярного воспаления, однако, как и в случае с розиглитазоном, больные прибавляли в среднем 2,8 кг к своей массе тела по сравнению с потерей 0,6 кг у лиц, получавших плацебо.

К классу PPAR относится и PPAR α , который ингибирует NF- κ B, уменьшает миграцию Т-клеток в область воспаления и тормозит продукцию провоспалительных цитокинов IL-1 и IL-6. Свойства агонистов PPAR α присущи фибратам, включая безафибрат, гемфиброзил и фенофибрат. Действие этих соединений изучалось лишь в небольших и кратковременных испыта-

ниях на основе оценки изменения ряда биохимических параметров.

Исследование эффектов рецептора CAR проводилось в эксперименте на мышах на модели неалкогольного стеатогепатита, индуцированного рационном с дефицитом метахолина (K. Lindor, 2009). В этом исследовании активатор CAR дихлорпиридоксibenzen индуцировал окисление жирных кислот одновременно с уменьшением выраженности стеатоза, апоптоза и воспаления.

Другой ядерный рецептор, PXR, тесно сопряжен с CAR. Представляет интерес то, что рифампицин и урсодезоксихолевая кислота способны активировать FXR и CAR и ослаблять повреждения печени, вызываемые литохолевой кислотой. В клинических исследованиях рифампицин оказывал более заметное положительное действие в отношении щелочной фосфатазы и билирубина у пациентов с первичным билиарным циррозом.

Хенодесоксихолевая кислота относится к числу наиболее эффективных лигандов FXR. В настоящее время проводится клиническое исследование с включением пациентов с ПБЦ, нацеленное на определение эффективности одного из новых

агонистов FXR, в частности соединения 6ECDCA (Int-747). Критериями оценки служат динамика уровня щелочной фосфатазы, выраженности воспаления и фиброза (гиалуриновая кислота, пропептид коллагена III типа, тканевой ингибитор матриксных протеиназ, С-реактивный белок, жирные кислоты, TNF α , TGF β и др.).

Завершая этот раздел, следует отметить, что широкий диапазон одних и тех же генов, нередко контролируемых разными ядерными рецепторами, представляет существенную проблему при выборе или создании специфических лигандов ЯР. Последующие фундаментальные исследования в этом направлении, возможно, позволят идентифицировать эффективные лиганды ядерных рецепторов, которые можно будет применять в клинической практике для лечения заболеваний печени, в том числе холестаза, гепатотоксического синдрома, жирной печени наряду с патологией метаболизма, включая сахарный диабет, дислипидемию и атеросклероз. Более того, ядерные рецепторы могут оказаться подходящей терапевтической мишенью при лечении вирусных гепатитов, фиброза, цирроза и рака печени.

Список литературы

1. *Alvaro D., Barbaro B., Franchitto A. et al.* Estrogens and insulin-like growth factor 1 modulate neoplastic cell growth in human cholangiocarcinoma // *Am. J. Pathol.* – 2006. – Vol. 169, N 3. – P. 877–888.
2. *Donthamsetty S., Bhawe V.S., Mitra M.S. et al.* Nonalcoholic steatohepatitic (NASH) mice are protected from higher hepatotoxicity of acetaminophen upon induction of PPAR α with clofibrate // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 230, N 3. – P. 327–337.
3. *Elfaki D.A.H., Bjornsson E., Lindor K.D.* Nuclear receptors and liver disease – current understanding and new therapeutic implications // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2009. – Vol. 30, N 8. – P. 816–825.
4. *Eloranta J.J., Kullak-Ublick G.A.* The role of FXR in disorders of bile acid homeostasis // *Physiology.* – 2008. – Vol. 23. – P. 286–295.
5. *Gui C., Miao Y., Thompson L. et al.* Effect of PXR ligands on transport mediated by human OATP1B1 and OATP1B3 // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 584. – P. 57–65.
6. *Hubbert M.L., Zhang Y., Lee F.Y., Edwards P.A.* Regulation of hepatic insig-2 by the farnesoid X receptor // *Mol. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 21. – P. 1359–1369.
7. *Klein K., Kullak-Ublick G.A., Wagner M. et al.* Hepatocyte nuclear factor-4 α and bile acids regulate human concentrative nucleoside transporter-1 gene expression // *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2009. – Vol. 296. – P. 936–947.
8. *Lefebvre P., Cariou B., Lien F. et al.* Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation // *Physiol. Rev.* – 2009. – Vol. 89. – P. 147–191.
9. *Mancino A., Mancino M.G., Glaser S.S. et al.* Estrogens stimulate the proliferation of human cholangiocarcinoma by inducing the expression and secretion of vascular endothelial growth factor // *Dig. Liver Dis.* – 2009. – Vol. 41, N 2. – P. 156–163.
10. *Meng Z., Wang Y., Wang L. et al.* FXR regulates liver repair after CCl $_4$ -induced toxic injury // *Mol. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 24. – P. 886–897.
11. *Ramiure C., Scholtus C., Diaz O. et al.* Transactivation of the hepatitis B virus core promoter by the nuclear receptor FXR α // *J. Virol.* – 2008. – Vol. 82, N 21. – P. 10832–10840.
12. *Scholtes C., Diaz O., Icard V. et al.* Enhancement of genotype 1 hepatitis C virus replication by bile acids through FXR // *J. Hepatol.* – 2008. – Vol. 48, N 2. – P. 192–199.
13. *Teng S., Piquette-Miller M.* Hepatoprotective role of PXR activation and MRP3 in cholic acid-induced cholestasis // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 151, N 3. – P. 367–376.
14. *Uppal H., Saini S.P., Moschetta A. et al.* Activation of LXRs prevents bile acid toxicity and cholestasis in female mice // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45, N 2. – P. 422–432.
15. *Yang F., Huang X., Yi T. et al.* Spontaneous development of liver tumors in the absence of the bile acid receptor farnesoid X receptor // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 863–867.
16. *Yusuke Inoue, Ai-Ming Yu, Sun Hee Yim et al.* Regulation of bile acid biosynthesis by hepatocyte nuclear factor 4 α // *J. Lipid Res.* – 2006. – Vol. 47. – P. 215–227.
17. *Zhang J., Huang W., Qatanani M. et al.* The constitutive androstane receptor and pregnane X receptor function coordinately to prevent bile acid-induced hepatotoxicity // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, N 47. – P. 49517–49522.