

Систематический анализ взаимосвязей между неалкогольной жировой болезнью печени и перегрузкой тканей железом: перспективные направления применения полипептидной терапии

Торшин И.Ю.¹, Громова О.А.¹, Богачева Т.Е.²

¹ Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук, (ул. Вавилова, 4, Москва, 211933, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Шереметевский пр-т, д. 8, Иваново 153012, Россия)

Для цитирования: Торшин И.Ю., Громова О.А., Богачева Т.Е. Систематический анализ взаимосвязей между неалкогольной жировой болезнью печени и перегрузкой тканей железом: перспективные направления применения полипептидной терапии. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023; 218(10): 139–152. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-218-10-139-152

✉ Для переписки:

Богачёва Татьяна

Евгеньевна

tatiana.boga4iova@

yandex.ru

Торшин Иван Юрьевич, к.ф.-м.н., к.х.н., с.н.с.

Громова Ольга Алексеевна, д-р мед. наук, проф., в.н.с., научный руководитель Института Фармакоинформатики

Богачева Татьяна Евгеньевна, к.м.н., доцент кафедры фармакологии

Резюме

* **Иллюстрации**
1–13 —
на цветной
вклейке
в журнал
(стр. V–XI).

EDN: APAAGT



Перегрузка железом при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) — достаточно частый феномен, которому уделяется крайне мало внимания в клинической практике. Тем не менее, перегрузка железом, приводящая к гемосидерозу (отложение «неперевариваемых» нанодисперсных окислов железа в различных тканях) существенно отягощает НАЖБП, стимулируя усиление хронического воспаления, инсулинрезистентности и гемосидероза других органов. В результате, происходит ферроптоз гепатоцитов (апоптоз, вызванный перегрузкой железом и гемосидерозом), что ускоряет трансформацию неалкогольного стеатоза в неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) и, в дальнейшем, в цирроз печени. Перегрузка железом утяжеляется на фоне микронутриентных дефицитов и патогенной микробиоты кишечника. В работе представлены результаты систематического анализа данного вопроса, описаны перспективы терапии с использованием микронутриентов и гидролизатов плаценты человека (ГПЧ), способствующих не только регенерации ткани печени, но и нормализации гомеостаза железа.

Ключевые слова: перегрузка железом, гемосидероз, жировая болезнь печени, гидролизаты плаценты человека, интеллектуальный анализ данных.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-218-10-139-152>

Systematic analysis of the relationship between non-alcoholic fatty liver disease and tissue iron overload: promising areas for the use of polypeptide therapy

I. Yu. Torshin¹, O. A. Gromova¹, T. E. Bogacheva²¹ Federal Research Center "Computer Science and Control" of Russian Academy of Sciences, (42, Vavilova Str., Moscow, 119333 Russia)² Ivanovo State Medical Academy, (8, Sheremetevskiy avenue, Ivanovo, Russia)

For citation: Torshin I. Yu., Gromova O. A., Bogacheva T. E. Systematic analysis of the relationship between non-alcoholic fatty liver disease and tissue iron overload: promising areas for the use of polypeptide therapy. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023; 218(10): 139–152. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-218-10-139-152

✉ **Corresponding author:**

Tatiana E. Bogacheva
tatiana.boga4iova@yandex.ru

Ivan Yu. Torshin, PhD in Applied Mathematics, Institute of Pharmacoinformatics, leading researcher of the Department of Intellectual Systems; SPIN: 1375–1114, ORCID: 0000–0002–2659–7998, Researcher ID: C-7683–2018

Olga A. Gromova, Professor, Doctor of Medical Sciences, Science Head of the Institute of Pharmacoinformatics, leading researcher of the Department of Intellectual Systems; SPIN: 6317–9833, Scopus Author ID: 7003589812, ORCID: 0000–0002–7663–710X, Researcher ID: J-4946–2017

Tatiana E. Bogacheva, PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; ORCID: 0000–0002–5042–4886

* Illustrations 1–13 to the article are on the colored inset of the Journal (p. V–XI).

Summary

Iron overload in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a fairly common phenomenon that receives very little attention in clinical practice. However, iron overload, leading to hemosiderosis (deposition of "indigestible" nanodispersed iron oxides in various tissues) significantly aggravates NAFLD, stimulating increased chronic inflammation, insulin resistance and hemosiderosis of other organs. As a result, ferroptosis of hepatocytes occurs (apoptosis caused by iron overload and hemosiderosis), which accelerates the transformation of non-alcoholic steatosis into non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and, subsequently, into liver cirrhosis. Iron overload is aggravated by micronutrient deficiencies and pathogenic intestinal microbiota. The paper presents the results of a systematic analysis of this issue, describes the prospects for therapy using micronutrients and human placenta hydrolysates (HPP), which contribute not only to the regeneration of liver tissue, but also to the normalization of iron homeostasis.

Key words: iron overload, hemosiderosis, fatty liver disease, human placenta hydrolysates, data mining

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) — патология, характеризующаяся избыточным разрастанием жировой ткани печени. НАЖБП длительное время течёт бессимптомно [1]. Заболевание характеризуется двумя основными морфологическими формами: неалкогольный стеатоз (жировой гепатоз) и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). При неалкогольном стеатозе процентное содержание липидных отложений в ткани печени превышает 5%, но, всё же, процесс обратим и прогноз благоприятен (при адекватной коррекции двигательной активности и диеты). НАСГ имеет различные степени тяжести заболевания: фиброз, цирроз, гепатоцеллюлярную карциному [2].

Развитие НАЖБП является сложным и многогранным процессом (рис. 1). Одним из патофизиологических механизмов НАЖБП является взаимосвязь стеатоза с гомеостазом железа. Гематологические проявления НАЖБП включают

синдром дисметаболической перегрузки железом (СДПЖ). СДПЖ характеризуется стеатозом, умеренным отложением железа в тканях, и повышенным уровнем ферритина в сыворотке крови при нормальном насыщении трансферрина сыворотки железом [3, 4].

Нарушения обмена железа встречаются, в среднем, у 1/3 пациентов с НАЖБП [4]. В частности, эпидемиологическое исследование населения северо-восточной Германии (n = 2561) показало, что распространенность НАЖБП составила 42% (легкая форма — 28,5%, умеренная — 12%, тяжелая — 1,8%). Перегрузка железом, выявленная по МРТ печени, наблюдалась у 17,4% обследованных (лёгкая — у 14,7%, умеренная — 0,8%, высокая — 2%), то есть у 41% пациентов с НАЖБП. Содержание железа в печени коррелировало со средним уровнем сывороточного гемоглобина в эритроцитах [5].

Перегрузка железом ещё более часто наблюдается у пациентов с НАСГ, а количество железа, накопленного в печени, положительно коррелирует с гистологической тяжестью НАСГ. Ферроптоз (буквально «железо-апоптоз») представляет собой недавно охарактеризованную форму железо-зависимой программируемой гибели клеток, вызванную окислительным стрессом и нарушениями аутофагии (процесс внутриклеточной переработки дисфункциональных белков и других компонентов клетки) [6].

Причины перегрузки железом при НАЖБП связаны не только с патофизиологией НАЖБП (см. далее), но и несбалансированной диетой, с бесконтрольным потреблением нутрициально и фармацевтически неполноценных форм железа (сульфаты железа, оксиды/гидроксиды железа и т.п.). Также, причиной перегрузки железом может быть и портальная гипертензия с портокавальным шунтированием крови и депонированием её в сосудах печени (что приводит к усилению транслокации трансферриновых рецепторов на мембранах гепатоцитов и избыточно стимулирует биосинтез ферритина) [7, 8]. Известны также ятрогенные формы перегрузки железом при НАЖБП — например, при использовании антипсихотических препаратов [4].

Перегрузка тканей железом на фоне жировой дисфункции печени может быть спровоцирована вирусной инфекцией (гепатит С, короновиральная инфекция COVID-19 и др.). В частности, беременность

обостряет характерное для COVID-19 острое воспаление, повышая риск цитокинового шторма, характеризующегося лавинообразным нарастанием концентраций маркёров воспаления. Цитокиновый шторм (1) повышает риск потери беременности, (2) способствует формированию полиорганной патологии у беременной и плода, (3) приводит к гипоксии и к бесконтрольному перераспределению железа между тканями вследствие деструкции эритроцитов. В результате возникает анемия с гиперферритинемией и создаются условия для формирования перегрузки железом печени, лёгких и других тканей беременной и плода [9].

В целом, вопросу перегрузки железом при НАЖБП уделяется недостаточное внимание в клинической практике. Высокая распространенность данного феномена у пациентов с НАЖБП, наряду с отсутствием эффективной и безопасной фармакотерапии данного состояния, указывают на актуальность исследования данного вопроса. В работе представлены результаты систематического анализа научной литературы по фундаментальным и клиническим исследованиям перегрузки железом на фоне НАЖБП. По запросу «non-alcoholic fatty liver AND iron» в базе данных PUBMED найдено 525 ссылок. Для выявления основных направлений исследований проведён систематический компьютерный анализ данной выборки публикаций с использованием современных методов топологического и метрического анализа «больших данных» [10, 11].

Результаты систематического компьютеризированного анализа литературы

В результате проведения систематического анализа литературы был выделен 92 информативных биомедицинских термина, отличающих публикации по взаимосвязи НАЖБП и перегрузки железом от публикаций в контрольной выборке. В качестве контрольной выборки публикаций использовались 500 статей, случайно выбранных из 221366 публикаций, найденных по запросу «liver NOT iron NOT non-alcoholic fatty». Аннотация полученных терминов посредством референсных таблиц «SNAP» позволила провести рубрицирование текстов исследований по молекулярно-биологическим процессам в соответствии с номенклатурой GO (Gene Ontology). В результате, была построена терминологическая карта взаимосвязей различных аспектов перегрузки железом при НАЖБП (Рис. 2).

В соответствии с диаграммой на Рис. 2 наиболее информативные термины сгруппированы в 3 группы: кластер 1 «Перегрузка клеток железом», кластер 2 «Провоспалительные реакции при НАЖБП, их молекулярные механизмы и системные последствия» и кластер 3 «Хронические заболевания печени». В кластер 1 «Перегрузка клеток железом» входят всего несколько терминов, указывающих собственно на патологию обмена железа (перегрузка железом, GO:1903988 Экспорт Fe²⁺ через мембрану) и соответствующие диагнозы по МКБ-10 (J63.4 Сидероз, E83.1 Нарушения обмена железа).

В самый большой кластер 2 «Провоспалительные реакции при НАЖБП, их молекулярные

механизмы и системные последствия» входит 47 терминов, детализирующих молекулярные механизмы взаимосвязи НАЖБП с перегрузкой железом и воспалением. НАЖБП присуще не просто избыточное накопление железа в клетках, а гемосидероз — т.е. буквальное «пропитывание» тканей гемосидерином, который состоит из нанодисперсных и нерастворимых в воде оксидов железа. Гемосидероз тканей стимулирует развитие хронического воспаления, вызывая гибель паренхиматозной ткани и замещению её фибротической. В эксперименте было показано, что наночастицы оксида железа, подобные гемосидерину, усугубляют стеатоз печени и повреждение печени при НАЖБП через провоспалительный сигнальный путь BMP-SMAD [12].

В результате, отложения гемосидерина неизбежно связаны с формированием провоспалительных реакций. Термины в кластере 2 указывают на *клеточные механизмы активации воспаления* (GO:0002283 Активация нейтрофилов, GO:0032764 Снижение продукции цитокинов тучными клетками, GO:0043305 Дегрануляция тучных клеток, GO:0043310 Ингибирование дегрануляции эозинофилов, GO:0048534 Гемопоз и лимфопоз) и на ряд *молекулярных механизмов*. Перегрузка железом при НАЖБП связана, в первую очередь, с *избыточной активацией сигналов провоспалительных цитокинов* (GO:0004908 Рецептор ИЛ-1, GO:0004910 блокада рецептора ИЛ-1, GO:0032651 Регуляция биосинтеза ИЛ-1b, GO:0038113 Сигнальный путь ИЛ-9,

GO:0035715 Хемокин CC2, GO:0035716 Хемокин CC12, GO:0035717 Хемокин CC7, GO:0045408 Регуляция биосинтеза ИЛ-6, GO:0071791 Хемокин CC5), эффекты которых реализуются посредством активации *сигнального каскада NFkB* (GO:0007252 Фосфорилирование Ikb, GO:0008385 Киназный комплекс Ikb, GO:0033256 Сигналы Ikb/NFkB), *лейкотриенов* (GO:0001632 Рецептор лейкотриена B4, GO:0002540 Выработка лейкотриенов) и с нарушениями обмена *микронутриентов* (GO:0004478 Метионин-аденозилтрансфераза, GO:0006556 Биосинтез S-аденозилметионина, GO:0006776 Метаболизм витамина A).

Кроме того, перегрузка железом при НАЖБП связана с нарушениями обмена жиров (GO:0034635 Транспорт глутатиона, Дислипидемия, GO:0036153 Модификации триглицеридов, GO:0038185 Сигнальный путь рецептора желчных кислот, Холестаз, Атеросклероз), андрогенов (GO:0006702 Биосинтез андрогенов), *аммиака и карбоновых кислот* (GO:0005754 Митохондриальная АТФ-синтаза, GO:0006842 Транспорт трикарбоновых кислот, GO:0015746 Транспорт цитрата, GO:2001250 Активация цикла переработки аммиака, GO:0000052 Метаболизм цитрулина, GO:0034255 Регуляция обмена мочевины). Причинно-следственные взаимосвязи между этими нарушениями и перегрузкой железом при НАЖБП были экспериментально продемонстрированы.

Например, перегрузка железом, вызванная добавлением в диету сульфата железа (8 недель), усугубляла нарушения липидного обмена и повреждения печени у крыс с НАЖБП, вызванной диетой с высоким содержанием жиров. Избыток железа усиливал накопление липидов, повышал уровни липидов, АСТ, АЛТ в сыворотке крови, уровни экспрессии провоспалительных белков CD36 и FAS в печени и снижал активность антиоксидантных ферментов печени [13]. В модели гемохроматоза у мышей (линия Hfe^{-/-}) снижение потребления железа ослабляло развитие стеатоза, возникающего в результате высококалорийной диеты [14].

Метаболомный анализ НАСГ у крыс, получавших диету с высоким содержанием жиров с избытком железа, показал увеличение накопления триглицеридов и окислительного повреждения гепатоцитов. Всего было идентифицировано 13 метаболитов и четыре потенциальных пути, вовлеченных в патогенез НАСГ. Метаболиты аденин, цАМФ, гиппуровая кислота, кинуреновая кислота, ксантуреновая кислота, мочевиная кислота и лимонная кислота были значительно ниже ($p < 0.05$) в группе, получавшей диету с высоким содержанием жиров. В группе с высоким содержанием жиров и железа в диете

различия в уровнях вышеупомянутых метаболитов были ещё более выражены [15].

Перегрузка железом, провоспалительные реакции и дислипидемия связаны с *неврологическими нарушениями* (GO:0047696 Бета-адренергический рецептор, GO:0004890 ГАМК-А рецептор, ишемия головного мозга, болезнь Альцгеймера, шизофрения) и с другими *патологиями с компонентом хронического воспаления* (бронхиальная астма, артрит).

В кластере 3 «Хронические заболевания печени» сконцентрированы термины, отражающие (1) *патологии печени, которые также сопровождаются нарушениями обмена железа* (ишемия тканей, вирусный гепатит, тромбозы, GO:0034120 Агрегация эритроцитов, кардиомиопатии, D56 Талассемия, K73.9 Хронический гепатит неуточненный, K75.4 Аутоиммунный гепатит) и (2) *патологические состояния, коморбидные НАЖБП* (K74.6 Другой и неуточненный цирроз печени, канцерогенез, E66.9 Ожирение неуточненное, K83.0 Холангит, желчекаменная болезнь, гиперлипидемия). Эти патологии связаны с рядом *микронутриентных дефицитов* (дефицит холина, GO:0003997 Ацил-КоА-оксидаза, GO:0047598 7-дегидрохолестеринредуктаза, GO:0070562 Сигналы рецептора витамина D, аминокислотный метаболизм) и *избыточной активацией механизмов цитокинного воспаления* (GO:0004920 Рецептор ИЛ-10, GO:0019962 Связывание интерферона I, GO:0071144 Сигнальные белки smad, GO:1900136 Регуляция активности хемокинов, GO:1904899 Рост звездчатых клеток печени, GO:2000095 Регуляция сигнального пути wnt).

Ряд терминов не образуют отдельного кластера (т.н. внекластерные термины). Тем не менее, они указывают на ряд интересных аспектов взаимосвязи НАЖБП с болезнями перегрузки железа: *нарушения обмена ряда дополнительных микронутриентов* (GO:0006085 Биосинтез ацил-кофермента A, GO:0009374 Связывание биотина, GO:0010189 Биосинтез витамина E), *нарушения обмена железа и меди* (E83.01 Болезнь Вильсона-Коновалова, D64.9 Анемия неуточненная, E80.2 Другие порфирии), гепатолентикулярную дегенерацию и нейродегенерацию при перегрузке железом.

Далее, будут последовательно рассмотрены клинические последствия НАЖБП, ассоциированные с перегрузкой железом, молекулярные механизмы гомеостаза железа и их нарушения при НАЖБП, феномен ферроптоза, воспаление и нарушения обмена инсулина при НАЖБП на фоне перегрузки железом, нарушения микронутриентного обмена на НАЖБП, связанные с перегрузкой железом. В заключение, оценены перспективы терапии перегрузки железом при НАЖБП.

Клинические последствия НАЖБП, ассоциированные с перегрузкой железом

Ассоциация между НАЖБП и биомаркерами метаболизма железа была показана в крупномасштабном клинико-эпидемиологическом исследовании ($n = 3727$). У пациентов с НАЖБП наблюдалось снижение уровней сывороточного железа, сывороточного ферритина, насыщения трансферрина

и повышение уровней растворимого рецептора трансферрина. В контролируемом исследовании на животных в печени пациентов с НАЖБП и у мышей наблюдалось снижение экспрессии гепсидина и повышение экспрессии гена ферропортина [16].

В том же крупномасштабном перекрестном исследовании показана взаимосвязь показателей статуса железа с возникновением НАЖБП и с прогрессией фиброза печени. Риск НАЖБП повышался с увеличением уровней сывороточного ферритина (ОШ 1,16, 95% ДИ 1,09–1,23), ненасыщенной железосвязывающей способности (UIBC, ОШ 1,31, 95% ДИ 1,06–1,62), общей железосвязывающей способности (ОШЖ, ОШ 1,82, 95% ДИ: 1,23–2,67) и гемоглобина (ОШ 2,67, 95% ДИ 1,48–4,82). Риск НАЖБП почти 6-кратно увеличивался среди пациентов в четвертом квартиле ферритина сыворотки (ОШ = 5,8, 95% ДИ 4,0–8,4) [17]. При более тяжелом стеатозе и фиброзе печени ферритин увеличивался, а концентрации витамина С в крови снижались ($P < 0.001$). Повышенный ферритин сыворотки был фактором риска НАЖБП, а повышенный уровень витамина С, напротив, был защитным фактором от НАЖБП и фиброза печени. Эксперименты на гепатоцитах линии *hcrG2* показали, что витамин С облегчает стеатоз и поддерживает гомеостаз железа за счет ингибирования повышения ферритина и пула лабильного железа [18]. Концентрации железа в сыворотке крови были обратно пропорциональны риску НАЖБП при прогрессирующем фиброзе печени ($P = 0.018$) [19].

Мезенхимальный гемосидероз печени ассоциирован с неблагоприятными отдаленными исходами у пациентов с НАЖБП, подтвержденной биопсией ($n = 299$). За время наблюдения у 156 пациентов (52%) не было обнаружено окрашиваемого железа в биоптатах печени, у 58 (19%) — исключительно ретикулоэндотелиальное железо, у 19 (6%) — исключительно гепатоцеллюлярное и у 66 (22%) — «смешанный» гемосидероз. Наличие гемосидероза типа «ретикулоэндотелиальное железо» соответствовало повышению риска НАСГ в 2,4 раза (95-ДИ, 1,0–5,8, $P = 0.048$), а «смешанный» гемосидероз соответствовал ещё более высокому риску (ОШ 3,6; 95% ДИ 1,4–9,5, $P = 0.01$) [20].

Перегрузка железом увеличивает риск развития гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с НАЖБП ($n = 18569$). В среднем через 4,34 года наблюдения карцинома развилась у 244 пациентов. Риск карциномы был в 2–3 раза выше у пациентов в квартиле с самым высоким уровнем железа сыворотки (ОШ 2,91, 95% ДИ 1,34–6,30) и в квартиле пациентов с самым высоким насыщением трансферрина (ОШ 2,02, 95% ДИ 1,22–3,32) [21].

При исследовании пациентов с НАЖБП ($n = 167$) установлена корреляция между уровнями ферритина в сыворотке и стеатозом. Ферритин сыворотки обследованных без стеатоза ($206,2 \pm 189,8$ нг/мл) был значительно ниже, чем у пациентов с легким ($286,6 \pm 200,8$ нг/мл), умеренным ($326,5 \pm 214,7$ нг/мл) и тяжелым стеатозом ($391,5 \pm 184,9$ нг/мл, $P < 0.005$). Уровни сывороточного ферритина коррелировали

с индексом массы тела, АЛТ, ГГТ, ЛПНП. Порог уровня ферритина для оптимальной диагностики НАЖБП составил 214 нг/мл (чувствительность 80%, специфичность 69%) [22].

Повышенные уровни ферритина сыворотки связаны с повышенной смертностью у пациентов с НАЖБП, подтвержденной биопсией ($n = 222$). Когорту разделили на «высокие» ($n = 89$) и «нормальные» ($n = 133$) значения ферритина, используя пороговый уровень 350 мкг/л у мужчин и 150 мкг/л у женщин. Через 16 лет наблюдений у пациентов с исходно высоким ферритином фиброз был более выраженным, чем у пациентов с нормальным уровнем ферритина ($P < 0.05$). В группе с высоким уровнем ферритина смертность была на 10% выше (ОШ 1,10 в год, 95% ДИ 1,01–1,21, $P < 0.05$) [23].

Перегрузка железом при НАЖБП отрицательно влияет не только на состояние печени, но и на состояние других тканей. Перегрузка железом вызывает окислительный стресс и нарушение передачи сигналов инсулина в гепатоцитах [24]. Спленоциты, накапливающие железо, могут усугублять НАСГ из-за избыточной продукции провоспалительных цитокинов (TNF, IL-1 и т.д.) и активных форм кислорода [25]. Перегрузка поджелудочной железы железом увеличивает сердечнососудистый риск у пациентов с НАСГ ($n = 324$). Перегрузка поджелудочной железы железом, определённая по МРТ, установлена у 45% пациентов и была связана с 2-кратно повышенным риском сердечнососудистой патологии (ОШ = 2,39, 95% ДИ 1,32–4,37). МРТ-определяемый стеатоз поджелудочной железы, встречающийся у 25% пациентов, повышал риск сердечнососудистых заболеваний в 3 раза (ОШ = 3,15, 95% ДИ 1,63–6,09) [26].

В когортном исследовании ($n = 2734$) обнаружены взаимосвязи между функцией щитовидной железы и оценками содержания жира и железа в печени, полученными с помощью МРТ. Результаты позволяют предположить, что субклинический гипертиреоз ассоциирован с НАЖБП. Уровни свободного тироксина (Т4) в сыворотке были обратно пропорциональны содержанию жира в печени, содержанию железа в печени и перегрузке железом в печени. Уровни сывороточного свободного трийодтиронина (Т3), а также соотношение «трийодтиронин: тироксин» были положительно связаны с содержанием жира в печени, НАЖБП и содержанием железа в печени. Эти данные могут быть результатом более высокой интенсивности конверсии Т4 в биологически активную форму Т3 [27].

Показана связь между перегрузкой железом метаболизмом железа и когнитивными нарушениями у пациентов с НАЖБП старше 60 лет. Когнитивные нарушения были обнаружены у 54% участников и были достоверно ассоциированы с более высокими уровнями растворимого рецептора трансферрина (ОШ 2,57, 95% ДИ 1,33–4,93, $P = 0.005$) [28].

Молекулярные механизмы гомеостаза железа и их нарушения при НАЖБП

Уровни железа, глюкозы и жировой обмен взаимосвязаны. Распределение жира в организме и физические упражнения влияют на статус железа и пути

регуляции железа (включая гепсидин и эритроферрон). И наоборот, запасы железа в организме связаны с массой и распределением жира, а также

Таблица 1.
Основные белки
гомеостаза железа.

Table 1.
Major proteins of
iron homeostasis.

Белок	Функция	Клетки
ТФ Трансферрин	Перенос железа в плазме	Все
Ft, ферритин	Молекулярное депо железа	Все
TfR1 рецептор трансферрина	Эндоцитоз трансферрина, высвобождение железа	Эритроциты, эпителий кишечника, макрофаги
TfR2 рецептор трансферрина	Эндоцитоз трансферрина, высвобождение железа	Гепатоциты, моноциты
DMT1 транспортер двухвалентных металлов	Перенос железа в цитоплазму	эпителий кишечника
FP1 Ферропортин	Переносит избыток железа из цитоплазмы в межклеточное пространство	эпителий кишечника
Dcytb цитохром <i>b</i>	Восстанавливает Fe ³⁺ в Fe ²⁺ при всасывании железа в 12-перстной кишке	Энтероциты ворсинок
Гепестин	Перенос железа из энтероцитов в кровь	Энтероциты ворсинок
HFE гемохроматоз	Регулирует всасывание железа взаимодействуя с трансферрин-рецептором и β 2-микроглобулином	Клетки Панета, макрофаги
Гепсидин	Антибактериальная активность, регуляция гомеостаза железа	Печень, кровь
IRP1, Fe-регулирующий белок 1	Посттранскрипционный контроль мРНК генов Ft, TfR1, DMT1, FP1	Печень, селезенка, почки t
IRP2	Посттранскрипционный контроль мРНК	12-перстная, почки, мозг
HCP1 Гем-переносящий белок	Непосредственно переносит гем и цинк-протопорфирин из тонкого кишечника внутрь клеток	Энтероциты, мозг
HO1 Гемоксигеназа	Дегградация гема с образованием биливердина	Печень, костный мозг, селезенка
β 2-микроглобин	Взаимодействует с HFE	Все
ZIP14	Транспорт железа, не связанного с трансферрином, транспорт цинка	Все
HJV Гемоювелин	Взаимодействует с белком морфогенеза костей (BMP) и регулирует экспрессию гепсидина	Печень, кровь

с метаболизмом глюкозы и липидов в жировой ткани, печени и мышцах. Изменения уровней или активности железорегулирующих белков эритроферрона и эритропоэтина влияют на метаболизм глюкозы и липидов, так что состояние гомеостаза железа влияет на развитие метаболических заболеваний — ожирения, диабета 2-го типа, гиперлипидемию и НАЖБП [29].

Молекулярные механизмы транспорта и гомеостаза железа достаточно сложны. В протеоме человека представлено не менее 230 белков, вовлеченных в гомеостаз железа и/или необходимых для проявления биологических функций этого микроэлемента. В таблице 1 приведены основные белки гомеостаза железа, которые, так или иначе, связаны с перегрузкой железом при НАЖБП.

Из всех белков транспорта железа наиболее известны трансферрин (ТФ) и ферритин. Молекула ТФ состоит из двух белковых субъединиц, каждая из которых связывает 1 ион железа. Когда молекула трансферрина, нагруженная двумя ионами железа, взаимодействует с трансферриновым рецептором на поверхности клетки, она транспортируется внутрь клетки в мембранном пузырьке (эндоцитоз). Железо, высвободившееся из трансферрина, связывается специфическим белком *ферритином*. Этот белок образован из 24 субъединиц, образующих полость, в которой может поместиться, в среднем, 4500 атомов Fe³⁺ (Рис. 3).

Молекула ТФ взаимодействует с трансферриновым рецептором, транспортируется внутрь клетки, где ионы железа высвобождаются. Ген HFE (вариации которого считаются одной из причин

гемохроматоза) регулирует взаимодействие ТФ с одноименными рецепторами. Часть ионов железа передается в цитоплазму транспортером двухвалентных металлов (DMT1), где железо и оказывает свои биологические функции встраиваясь в геммы и в активные центры ферментов. Остальное железо хранится в ферритиновых капсулах и поступает в митохондрии по мере надобности. Транспорт железа, не связанного с ТФ, осуществляется ионными каналами. Железо-регуляторные белки (IRP) представляют собой датчики цитоплазматических уровней железа и управляют экспрессией генов, кодирующих основные белки гомеостаза железа: ферритин, ферропортин, DMT1 и др. [30].

Пептид *гепсидин* — один из центральных факторов регуляции гомеостаза железа. Гепсидин связывает гемопортин на мембранах энтероцитов, макрофагов и гепатоцитов. Комплекс «гепсидин-гемопортин» всасывается внутрь клетки, что приводит к сокращению экспорта железа и, следовательно, к более низкому уровню железа в плазме. Уровни гепсидина увеличиваются при перегрузке тканей железом и уменьшаются при недостаточном поступлении железа в ткани. Белки печени (HFE, рецептор ТФ 2, гемоювелин) являются белками-регуляторами синтеза гепсидина [31].

В гепатоциты железо поступает двумя основными путями. Связанные с трансферрином ионы железа поступают через рецептор TFR1, а несвязанные с трансферрином — через ионный канал SLC39A14. В гепатоцитах железо хранится в виде ферритиновых капсул и экспортируется из гепатоцитов посредством транспортного ионного канала

ферропортина (ФПН, рис. 4). В условиях дефицита железа большая часть железа связана с ТФ, который связывается с рецептором TFR1 на поверхности клетки с последующим рецептор-опосредованным эндоцитозом. В результате этого процесса из ТФ высвобождаются ионы трехвалентного железа которые восстанавливаются до двухвалентного лизосомальной редуктазой STEAP3. Двухвалентное железо затем транспортируется в лизосомальную мембрану с помощью транспортеров DMT1 и TRPM1/2, где оно становится частью пула лабильного железа в цитозоле. Лабильное железо может храниться в ферритиновых капсулах или использоваться для синтеза гема и железо-серных кластеров в митохондриях или в цитозоле. Система белков IRE/IRP регулирует экспрессию белков гомеостаза железа, повышая экспрессию TFR1 и DMT1 и снижая экспрессию FPN и FTH/FTL [32].

Во время перегрузки железом экспрессия гепсидина активируется либо сигнальным путем (BMP)/SMAD, либо посредством воспалительной передачи сигналов IL-6-рSTAT3, что ограничивает интенсивность обмена железа между гепатоцитами и межклеточной средой за счет увеличения деградации ферропортина. В ответ на избыток железа сигнальный белок BMP6 вместе с гемоювелином HJV активирует киназы Alk2/3, BMPR2, ACVR2A, также фосфорилируя сигнальный белок R-SMAD. Высокие концентрации комплекса «ТФ-железо», вследствие более обширных взаимодействий с TFR1, приводят к избыточному образованию комплексов TFR2/HJV/HFE, что усиливает передачу сигналов по каскаду BMP/SMAD при участии гепсидина. Протеаза TMPRSS6 ингибирует передачу сигналов по каскаду BMP/SMAD посредством расщепления и инактивации гемоювелина. Тогда, несвязанные с ТФ ионы железа попадают в гепатоциты через белки-переносчики металлов (SLC39A14 и др.) практически бесконтрольно, так что повышенные концентрации железа и частиц его нанокислов в цитозоле напрямую индуцируют ферроптоз [32].

Ожирение влияет на метаболизм железа на многих этапах цикла. В энтероцитах двенадцатиперстной кишки у пациентов с ожирением плотность ионных каналов DMT1 увеличивается на апикальной мембране, уровни ферропортина на поверхности клеток снижаются, а уровни ферритина в крови повышаются. Плотность рецепторов трансферрина в гепатоцитах увеличивается, а деградация ферритина замедляется, что сопровождается уменьшением количества свободных ионов Fe^{2+} , транспортируемых из клеток в кровь. При этом, интенсифицируется окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} , что соответствует усилению оксидативных процессов и воспаления [32].

Нарушение регуляции сигнального каскада гепсидина — основной механизм нарушений обмена железа у пациентов с НАЖБП/НАСГ. На фоне высокого потребления жиров в эксперименте у крыс, делеция гена гепсидина усугубляет нарушения липидного обмена печени и вызывает развитие фиброза [33]. Показана связь уровней гемоювелина и гепсидина в сыворотке крови с перегрузкой железом у пациентов с НАЖБП ($n = 65$). Напомним, что гемоювелин — ключевой регулятор железозависимой секреции гепсидина. У пациентов с НАЖБП отмечен значительно более низкий уровень гемоювелина (281 ± 40 нг/мл, контроль — 585 ± 120 нг/мл, $p < 0.001$). Пациенты с НАЖБП с перегрузкой железом имели значительно более низкий уровень гемоювелина (249 ± 62 , контроль 293 ± 55 нг/мл, $p = 0.032$) и значительно более высокий уровень гепсидина (78 ± 36 нг/мл, контроль 57 ± 29 нг/мл, $p = 0.027$), чем у пациентов с НАЖБП без перегрузки железом. Стадия фиброза была значительно выше в подгруппе пациентов НАЖБП с перегрузкой железом ($p < 0.001$). Уровни ферритина достоверно коррелировали как со стадией НОМА-IR ($r = 0.368$, $p = 0.002$), так и со стадией фиброза ($r = 0.571$, $p < 0.001$) [34].

Метаанализ исследований уровней гепсидина в сыворотке крови при хронических заболеваниях печени показал, что уровни гепсидина были значительно ниже у пациентов с вирусом гепатита С (16 исследований, -1.6 , 95% ДИ: $-2.66 \dots -0.54$, $p < 0.01$) и алкогольной болезнью печени (3 исследования) (-0.84 , 95% ДИ: $-1.6 \dots -0.07$, $p = 0.03$), но были значительно выше у пациентов с НАЖБП (12 исследований, $+0.62$, 95% ДИ: $0.21 \dots 1.03$, $p < 0.01$) (Рис. 5) [31].

Повышенные уровни гепсидина у пациентов с НАЖБП усиливают описанные выше нарушения молекулярных процессов транспорта железа, включая всасывание железа внутрь гепатоцитов. Перегрузка гепатоцитов железом, при условии заполнения всех ферритиновых капсул внутри клетки, приводит к тому, что описанные выше молекулярные механизмы «не справляются» с физическим избытком ионов железа, которое становится, буквально, «некуда складывать». В результате, ионы железа из цитозоля адсорбируются на различных внутриклеточных компартментах (см., например, упоминаемое выше «ретикулоэндотелиальное железо»), неизбежно окисляются, что приводит к формированию *гемосидерина* — смеси *нанодиспергированных окислов железа внутри клетки*. Наночастицы оксидов железа не только активируют процессы хронического воспаления в паренхиме печени [12], но и способствуют инициации ферроптоза — апоптоза клеток вследствие перегрузки железом.

Неалкогольная жировая болезнь печени и ферроптоз

Будучи основным органом для хранения железа и синтеза гепсидина, печень принципиально важна для поддержания гомеостаза железа. Когда внутриклеточного железа достаточно, количество железа, связанного с трансферрином, уменьшается, чтобы ограничить чрезмерное накопление железа. И усиление всасывания избытков железа внутрь клеток,

и функциональный дефицит железа (при неправильной компартментализации железа в паренхиме) приводят к перегрузке клеток железом, и, как следствие, к ферроптозу.

В условиях перегрузки железом усиливается образование редокс-активного железа, не связанного с трансферрином, которое, как было отмечено

выше, всасывается внутрь клеток ионными каналами — переносчиками металлов (SLC39A14 и др.). Как правило, избыток железа хранится в ферритине. Коактиватор ядерного рецептора 4 (NCOA4) связывается с ферритином, доставляя его в аутолизому, что приводит к высвобождению свободного железа. Ферритинофагия, опосредованная NCOA4, индуцирует ферроптоз за счет резкого возрастания концентраций внутриклеточного железа при протеолизе ферритина. Ферроптоз может частично тормозиться посредством белка PCBP1, который является белком-шапероном (белком-протектором) других белков регуляции гомеостаза железа [35]. Свободное железо напрямую участвует в образовании активных форм кислорода (Рис. 6) [32].

Накопление железа и пероксидов липидов в клетках печени может индуцировать клеточный ферроптоз, который играет решающую роль в патологическом прогрессировании НАЖБП [36].

НАЖБП, перегрузка железом и воспаление

Накопление наноокислов железа и вызываемый ими ферроптоз стимулируют развитие провоспалительных реакций. Данный процесс проявляется в соответствующих изменениях молекулярных и клеточных показателей анализа крови: возрастание уровней провоспалительных цитокинов и белков острой фазы, уровней активированных лейкоцитов, нарушения образования эритроцитов и др.

В частности, *увеличение ширины распределения размеров эритроцитов* (показатель «RDW» в общем анализе крови) *является прогностическим маркером при хронических заболеваниях печени*. На выработку эритроцитов влияет множество факторов, при этом дисфункция любого процесса может привести к анизоцитозу. В частности, хроническое воспаление приводит к усилению окислительного стресса и выработке воспалительных цитокинов, повышающих внутриклеточное всасывание железа, что приводит к снижению эритропоэза и увеличению RDW [38].

Печеночные макрофаги, особенно клетки Купфера, играют важную роль в прогрессировании НАЖБП, поскольку они участвуют в различных путях патогенеза НАЖБП, включая липополисахаридные толл-рецепторы (TLR), воспаление NLRP3, липотоксичность, резистентность к инсулину и отравление железом [39] (Рис. 7). Железо изменяет статус поляризации макрофагов и приводит к стеатогепатиту и фиброгенезу. Обработка мышей C57Bl6 железом (цитрат железа-аммония, FAC) приводила к повышению уровня экспрессии маркеров M1: CCL2, CD14, iNOS, IL-1b, IL-6 и TNF-а и увеличению CD68, TNF-а, IL-1b, и уровни белка IL-6. Нагрузка макрофагов железом в присутствии IL-4 приводила к снижению активности маркеров M2: аргиназы-1, Mgl-1 и M2-специфического регулятора транскрипции KLF4, снижению фосфорилирования STAT6, другого транскрипционного регулятора активации M2. *Перегрузка железом также стимулировала фиброгенез печени и стеатогепатит*. У пациентов с НАЖБП с отложением железа в печени наблюдалось повышение уровня экспрессии печеночных

В модели НАСГ, вызванной дефицитом холина с добавлением этионина (антагонист метионина), гибель гепатоцитов сопровождалась увеличением уровня окисленного фосфолипида этаноламина. На начальной стадии развития НАЖБП у мышей ферроптоз гепатоцитов приводил к повреждению печени, инфильтрации иммунных клеток, воспалению и переходу к стадии НАСГ. На начальных стадиях НАСГ, ингибиторы ферроптоза (например, тролокс) могут обратить вспять гибель клеток печени, воспаление и перекисное окисление липидов. Розиглитазон (гипогликемический препарат из группы тиазолидиндионов, повышает чувствительность тканей к инсулину), витамин Е ингибируют ферроптоз гепатоцитов и улучшают состояние печени при НАЖБП путем противовоспалительного действия, удаления избытка железа, нейтрализации перекисей липидов и активации сигнального пути Nrf2 [37] (рис. 7).

генов маркеров M1, IL-6, IL-1b и CD40, и снижение экспрессии гена маркера M2, TGM2 (Рис. 8.) [40].

Макрофаги активируются через липополисахаридные сигнальные пути TLR, тем самым усугубляя течение НАЖБП и стимулируя трансформацию в НАСГ. Активация сигнальных путей TLR приводит к секреции воспалительных факторов. Кроме того, макрофаги также могут участвовать в прогрессировании НАЖБП вследствие липотоксичности, глюкотоксичности и отравления железом (рис. 9) [40].

В частности, с ферроптозом в моделях НАСГ связана избыточная активация сигнального пути NFkB. Перегрузка железом с пищей усиливает воспаление печени и дислипидемию, вызванную у крыс т.н. западной диетой с высоким содержанием жиров и фруктозы. Добавление диетической перегрузки железом к западной диете достоверно увеличивало уровни триглицеридов и холестерина в сыворотке крови, усиливало воспаление печени и интенсивное отложение железа в синусоидальных макрофагах/клетках Купфера. Сидероз макрофагов был связан избыточной активацией путей NFkB и Th1/M1-связанных цитокинов (Рис. 10) [41].

Для уточнения механизма усиления воспаления печени из-за перегрузки железом изучены уровни NFkB (фактор транскрипции, участвующий во врожденных и адаптивных провоспалительных реакциях) в ткани печени. Перенос NFkB внутрь ядер клеток активирует транскрипцию нижестоящих генов-мишеней (TNFa34 и др.). Уровень NFkB в ядерной фракции печени увеличился в группе WD + Fe (P = 0.03 при сравнении с контролем, рис. 10a), тогда как цитоплазматическая экспрессия NFkB существенно не изменилась между всеми группами (рис. 11b). Киназный комплекс IKK (IKK), состоящий из двух киназ (IKKa и IKKb), является основным регулятором активности и уровней NFkB. Активированная IKK фосфорилирует и разрушает IKb, связывающий белок NFkB, что приводит к ядерной транслокации NFkB. Фосфорилированная киназа Akt активирует NFkB посредством фосфорилирования IKKa36. Спорадическая иммунореактивность

NFκB найдена в ядрах клеток Купфера групп (рис. 10д, 10з). Наиболее интенсивное окрашивание на NFκB наблюдалось в ядре и цитоплазме воспалительных клеток в микрогранулемах (рис. 10е, ж; черные стрелки) и в крупных очагах воспаления (рис. 10е, 10ж; черные стрелки) в группах WD и WD + Fe; некоторые гепатоциты вокруг очагов воспаления обладали ядерной иммунореактивностью NFκB (рис. 10е, 10ж; белые стрелки) [41].

Железо активирует передачу сигналов cGAS-STING, что дополнительно способствует воспалению печени в клетках печени (линия HepG2) и печени мышей. Обработка железом усиливала экспрессию cGAS, STING и их последующих мишеней, включая TBK1, IRF-3 и NFκB. Обработка клеток HepG2 и мышей цитратом железа-аммония увеличивала экспрессию воспалительных цитокинов, таких как IFN-гамма. гены, участвующие в метаболизме железа и сигнальном пути STING, активировались в тканях рака печени, а время выживания пациентов с высокой экспрессией этих генов в опухолевых тканях значительно сокращалось (Рис. 11) [42].

Важным аспектом формирования и поддержания хронического воспаления при НАЖБП/НАСГ являются нарушения состояния микробиома — совокупности полезной микрофлоры кишечника. У людей с ожирением, с НАЖБП или без него, чаще наблюдается синдром избыточного бактериального роста (СИБР) — состояния, при котором бактерии, в норме колонизирующие толстую кишку, присутствуют в избытке в тонкой кишке в сочетании с совокупностью

симптомов со стороны ЖКТ. У пациентов, страдающих НАЖБП, наблюдается повышенная кишечная проницаемость. Последствиями СИБР для здоровья являются, прежде всего, нарушения всасывания нутриентов (витамина В12, железа, холина, жиров, углеводов и белков) и деконъюгация солей желчных кислот [43].

Показано, что у пациентов с ожирением (n = 807) нарушения обмена железа влияют на НАЖБП именно через состояние микробиома кишечника. Уровни ферритина в сыворотке крови и накопление жира в печени были обратно пропорциональны содержанию семейств *Pasteurellaceae*, *Leuconostocaceae* и *Micrococcaceae*, а также видов *Veillonella*, *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* и прямо пропорциональны уровням *Bacteroides* и *Prevotella* spp. Активность некоторых метаболических бактериальных функций, связанных с метаболизмом железа (транспорт, хелатирование, биосинтез гема и сидерофора) и НАЖБП (биосинтез жирных кислот и глутатиона), также была связана с уровнями ферритина в сыворотке хозяина. Установлены воспроизводимые ассоциации между степенью накопления жира в печени, сывороточным ферритином, бактериями *Pasteurellaceae* и *Micrococcaceae*, бактериальными функциями, участвующими в транспорте гистидина, циркулирующим в организме гистидином, экспрессией в печени белков GYS2 (гликогенсинтазы 2) и транспортного белка SEC24B (белок для формирования транспортных везикул, отпочковавшихся от эндоплазматического ретикулума клетки) [44].

Перегрузка железом при НАЖБП и нарушения обмена инсулина

НАЖБП — системное заболевание, связанное с множеством внепеченочных проявлений: сахарным диабетом 2-го типа (СД2), ожирением, дислипидемией, сердечно-сосудистыми заболеваниями, хронической болезнью почек, тромбофилией [36580094], внепеченочными злокачественными новообразованиями (например, колоректальный рак), эндокринными заболеваниями (например, гипотиреоз, синдром поликистозных яичников, псориаз и остеопороз). Перегрузка железом способствует существенному утяжелению всех этих патологий [45].

Железо необходимо для дифференцировки, эндокринной, энергетической и других физиологических функций адипоцитов. В жировой ткани дефицит железа связан с ожирением (вследствие хронического воспаления), а избыток железа приводит к снижению чувствительности к инсулину из-за митохондриальной дисфункции и изменений адипокинов. Дефицит железа влияет на выработку и дифференцировку бурого жира (Рис. 12). Описанная выше регуляторная ось гепсидин-ферропортин — наиболее исследованный механизм балансировки метаболизма железа в адипоцитах. Кроме того, железо играет решающую роль в термогенезе адипоцитов: ведь именно железосодержащие митохондриальные белки на основе кофакторов гема и Fe-S- кластеров, играют незаменимую роль в функции термогенеза адипоцитов. Ожирение жировой ткани наблюдалось при дефиците железа, помимо повышенного уровня провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α, IL-1β и IL-6 [46].

У мышей с перегрузкой железом (линия Leprd/db/F^{pnwt}/C326S) повышенные уровни железа в печени вызывают окислительный стресс и перекисное окисление липидов, а также повышают резистентность к инсулину (на что указывает снижение фосфорилирования IRS1 и активации AKT1). В клетках печени отмечаются паттерны транскрипции, указывающие на липогенез *de novo* и усиление глюконеогенеза. Перегрузка железом у мышей также усиливает микрососудистые осложнения, наблюдаемые при диабетической ретинопатии [47].

В популяционной когорте (N = 365, 41% женщин) маркеры нарушения регуляции метаболизма глюкозы (HbA1c, глюкоза натощак, инсулин натощак, НОМА-IR, 2-часовая глюкоза и 2-часовой инсулин) коррелировали с содержанием железа и жира в печени по МРТ (Рис. 13) [48].

Уровни железа в сыворотке крови взаимосвязаны с метаболической дисфункцией НАЖБП при СД2 (n = 1467). Значительно более высокая распространенность НАЖБП была обнаружена во втором (45,7%), третьем (45,2%) и четвертом (47,0%) квартилях сывороточного железа, чем в первом квартиле (26,8%) что соответствует 2-кратному риску НАЖБП (ОШ: 1,73, 95% ДИ 1,42–2,10, p < 0.001). Данная ассоциация сохранялась и после поправок на пол, возраст и продолжительность СД2. Более высокий уровень железа в сыворотке крови был ассоциирован с более выраженной резистентностью к инсулину (p = 0.003) [49].

Нарушения микронутриентного обмена при НАЖБП, связанные с перегрузкой железом

Стимулированные гемосидерином воспаление, инсулин, перегрузка железом будут существенно утяжеляться на фоне нарушений обмена других микронутриентов. Дело в том, что биологические функции железа осуществляются в контексте многих микронутриентов, формирующих метаболизм человека. Систематический биоинформационный анализ всех молекулярных синергистов железа показал, что осуществление биологических функций железа невозможно без таких синергидных железу белковых кофакторов как гем, ионы меди, цинка, марганца, кальция, флавиновые и никотинамидные кофакторы, аскорбиновая кислота, ретиноиды, пиридоксин, хинон, кобаламин и др. [50]. Поэтому нарушения обмена железа, будь-то перегрузка железом или, наоборот, функциональный недостаток железа (анемии и др.) могут быть следствием нарушений обмена других микронутриентов [51].

Микроэлементы плазмы Co, Cs, Cu, Fe, Rb, Sr, Zn характерно изменяются у пациентов на разных стадиях НАЖБП по данным УЗИ брюшной полости (n = 189). В частности, цинк продемонстрировал статистически достоверную взаимосвязь с тяжестью заболевания: *более высокие уровни цинка соответствовали более лёгкому течению заболевания*. Уровни цезия были прямо пропорциональны тяжести заболевания, а уровни железа были обратно пропорциональны уровням инсулина в крови [52].

Важнейшим синергистом железа являются ионы меди. Медь входит в состав десятков ферментов, задействованных в окислительно-восстановительных реакциях, в которых также участвуют железо-зависимые белки. К наиболее известным медь-зависимым ферментам относятся Cu/Zn-супероксид дисмутаза (антиоксидантный эффект), лизил оксидаза (модификация коллагена, соединительная ткань), дофамин-β-гидроксилаза (синтез катехоламинов), тирозиназа (синтез меланина, пигментация и защитные свойства кожи) и др. Анализ генома человека указал на существование 4 функциональных групп медь-зависимых белков, особо влияющих на функции железа: цитохром С оксидаза (перенос

электронов в дыхательной цепи митохондрий), супероксид дисмутаза, металлоредуктазы STEAP (абсорбция Fe посредством трансферрина) и гефестин (взаимопревращение Fe²⁺/Fe³⁺) [51]. Недостаток меди в организме сопровождается ожирением, ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом. Даже пограничный дефицит меди — потенциальный фактор патофизиологии НАЖБП и других нарушений липидного обмена, таких как НАЖБП [53].

Низкие уровни в сыворотке белка-транспортера меди церулоплазмينا и высокие уровни белка-транспортера железа ферритина ассоциированы с НАСГ у пациентов с НАЖБП (n = 135). Редкие варианты гена церулоплазмينا связаны с гиперферритинемией (ферритин > 750 нг/мл) и повышенным содержанием железа в печени (гистология биопсии) у пациентов с НАЖБП [54]. Уровни церулоплазмينا и ферритина в сыворотке были предикторами стадий НАСГ со значениями площади под кривой (AUC) порядка 0,80 [55].

Измерение уровней церулоплазмينا в сыворотке крови указывают на новый неинвазивный подход к выявлению НАСГ. В исследование были включены пациенты с НАЖБП, подтвержденные биопсией, без СД2 (n = 138). Выраженность стеатоза, гепатоцеллюлярного баллонирования, воспаления, фиброза и гемосидероза печени уменьшалась с увеличением уровня церулоплазмينا в крови (p < 0.05). Прогностическая модель, включающая определение уровней церулоплазмينا, АСТ и ИМТ, позволяет отличить НАСГ от ранней стадии НАЖБП с точностью порядка 80% как в обучающей, так и тестовой выборках (AUC 0,80, 95% ДИ 0,69–0,90) [56].

Когортное исследование уровней меди, железа и марганца в биоптатах печени (n = 76) показало, что *концентрации марганца в печени у пациентов с НАСГ (3,8 ± 1,1 мкг/г) были ниже, чем у пациентов без НАСГ (6,4 ± 1,8, P < 0.001 мкг./г)*. Аналогичные результаты были получены и для уровня марганца в крови. Низкие уровни марганца — независимый предиктор НАСГ (ОШ 0.07, 95% ДИ 0.01–0.63) [57].

О терапии перегрузки железом при НАЖБП

Принимая во внимание отсутствие специальных препаратов для элиминации отложений железа в печени и в других тканях, поиск и апробация таких препаратов является насущной проблемой терапии НАЖБП. Были проведены ряд исследований, указывающих на перспективность применения микронутриентов и природных экстрактов для противодействия перегрузке железом при НАЖБП.

Биофлавоноид икарин (из экстракта горькой дыни) подавляет ферроптоз и ослабляет прогрессирование неалкогольного стеатогепатита у мышей, получающих диету с дефицитом метионина и холина [58]. *Зеаксантин* (ксантофилл бархатцев) предотвращает ферроптоз, способствуя функции митохондрий и ингибируя путь p53 в клетках HepG2, индуцированных свободными жирными кислотами [59].

Мелатонин снижает ферроптоз печени на модели НАЖБП у мышей путем ингибирования клеточного окислительного стресса через сигнальный путь MT2/cAMP/PKA/IRE1 и, тем самым, тормозит прогрессирование НАЖБП [60]. *Куркумол* (из экстракта куркумы) ингибирует ферритинофагию, сдерживая старение гепатоцитов посредством YAP/NCOA4 при НАЖБП [61]. *Антиоксидант куркумин* снижал влияние железа на передачу сигналов инсулина, АФК и окислительный стресс (p < 0.01) [24].

Одним из наиболее перспективных направлений является использование стандартизированных гидролизатов плаценты человека (ГПЧ), проявляющих уникальный комплекс фармакологических свойств, важных для профилактики и лечения заболеваний, сопровождающихся нарушениями

гомеостаза железа [62]. Имеется клинический опыт по использованию ГПЧ Лаеннек для элиминации гемосидероза печени. Гистологическое исследование биопсий печени, взятых у отдельных пациентов с наиболее тяжелыми поражениями печени, указало на существенно снижение содержания железа в биоптатах в динамике лечения Лаеннеком. В серии клинических случаев пациентов с НАЖБП/НАСГ стало очевидным существенное снижение жировой инфильтрации печени и отложений железа в форме гемосидерина при использовании ГПЧ Лаеннек в/м (4 мл/сут, 3 р/нед., 9 мес.) [63].

Экспериментальное применение ГПЧ Лаеннек на фоне хронической перегрузки железом у крыс (сульфат железа или полимальтозный комплекс железа, 2 мес.) приводило к снижению повреждения гепатоцитов (уровни АСТ/АЛТ). По данным гистологического анализа тканей различных органов применение ГПЧ снижало отложение железа в печени, в почках и полностью предотвращало избыточное накопление отложений железа в головном мозге [64].

Исследование пептидного состава стандартизированного ГПЧ с использованием гибридной масс-спектрометрии и современных методов анализа больших данных (топологическая теория распознавания) позволило установить в составе ГПЧ 19 пептидов, вовлечённых в регуляцию гомеостаза железа. Идентифицированные пептиды можно разделить на три группы: (1)

пептиды-хелаторы ионов железа, (2) гормоноподобные пептиды геморфин, спинорфин и (3) пептиды-ингибиторы специфических таргетных белков TMPRSS6, FURIN, FKBP1A, CUL1, SKP1. Идентифицированные пептиды способствуют устранению перегрузки тканей железом посредством регуляции уровней гепцидина и ферритина, т.е. основных защитных механизмов от перегрузки тканей железом. Регулируя уровни гепцидина, основного гормона гомеостаза железа, снижая синтез ферритина, проявляя противовоспалительные и иммуномодулирующие эффекты, эти пептиды способствуют устранению нарушений обмена железа, включая гемосидероз [65].

Клиническое исследование показало, что ГПЧ весьма эффективен в лечении пациентов с НАЖБП, инфицированных SARS-CoV-2, с длительным, застойным течением COVID-19 (n = 28). При назначении ГПЧ «Лаеннек» наблюдалась положительная клиническая динамика, отмечено снижение уровня ферритина (–282 мкг/л — у мужчин, –80 мкг/л — у женщин; p = 0.039), увеличение оксигенации крови до нормальных значений (p = 0.0029), снижение площади повреждения лёгких по данным компьютерной томографии (в среднем –10%; p = 0.0027), повышение относительного содержания лимфоцитов (+8%; p = 0.04), нормализация маркеров дисфункции печени (АСТ, АЛТ), креатинина и систолического артериального давления (p < 0.05). Все пациенты, получавшие Лаеннек, выздоровели в течение 3–15 дней [66].

Заключение

Терапия заболеваний, сопровождающихся перегрузкой железом печени и других тканей, находится в состоянии т.н. «фармакологического сиротства». Гепатопротекторы, используемые в терапии НАЖБП, направлены на регуляцию обмена желчи (урсодезоксихолиевая кислота), обмена метионина (метионин, S-аденозилметионин) и др. Например, в клинических рекомендациях по лечению НАЖБП, одобренных МЗ РФ (2022) [67], перечисление клинических эффектов гепатопротекторов (будь-то *локальные эффекты* — антистеатозный, противовоспалительный, антиоксидантный, антифибротический, антихолестатический, регенераторный или *плейотропные* — холеретический, гипоаммониемийный, гиполлипидемический, нейротропный, антиастенотический, системный цитопротективный, антиинсулинорезистентный) даже не затрагивает вопрос о необходимости фармакотерапии перегрузки железом.

Тем не менее, проведённый нами систематический анализ показал, что перегрузка железом существенно отягощает НАЖБП, стимулируя усиление хронического воспаления, инсулинорезистентности,

гиперферритинемии и ферроптоза гепатоцитов, усиливая профибротические процессы в печени. Поэтому, решение проблемы перегрузки железом печени — насущная задача фармакотерапии НАЖБП.

Систематический анализ показал, что использование стандартизированных гидролизатов плаценты человека является, по всей видимости, одним из наиболее перспективных направлений фармакотерапии перегрузки печени железом. Пептиды в составе ГПЧ, модулируя активность специфических таргетных белков протеома, способствуют нормализации регуляции гомеостаза железа гепцидином и гемоувелином. Клинические исследования показали эффективность стандартизированного ГПЧ в сохранении паренхимы печени, снижении воспаления, гиперферритинемии и выведении гемосидерина из печени. Для стратификации пациентов с НАЖБП и персонализированного назначения ГПЧ этим пациентам перспективно проведение клинико-эпидемиологического исследования взаимосвязей обмена железа, НАЖБП и других показателей состояния пациентов.

Литература | References

1. Cusi K, Isaacs S, Barb D, Basu R, Caprio S, Garvey WT, Kashyap S, Mechanick JI, Mouzaki M, Nadolsky K, Rinella ME, Vos MB, Younossi Z. American Association

of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Primary Care and Endocrinology Clinical

- Settings: Co-Sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). *EndocrPract.* 2022 May;28(5):528–562. doi: 10.1016/j.eprac.2022.03.010.
2. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016 Jul;64(1):73–84. doi: 10.1002/hep.28431.
 3. Pădureanu V, Dop D, Drăgoescu AN, Pădureanu R, Mușetescu AE, Nedelcu L. Non-alcoholic fatty liver disease and hematologic manifestations (Review). *Exp Ther Med.* 2021 Dec;22(6):1355. doi: 10.3892/etm.2021.10790.
 4. May M, Barlow D, Ibrahim R, Houseknecht KL. Mechanisms Underlying Antipsychotic-Induced NAFLD and Iron Dysregulation: A Multi-Omic Approach. *Biomedicines.* 2022 May 24;10(6):1225. doi: 10.3390/biomedicines10061225.
 5. Kühn JP, Meffert P, Heske C, Kromrey ML, Schmidt CO, Mensel B, Völzke H, Lerch MM, Hernando D, Mayerle J, Reeder SB. Prevalence of Fatty Liver Disease and Hepatic Iron Overload in a Northeastern German Population by Using Quantitative MR Imaging. *Radiology.* 2017 Sep;284(3):706–716. doi: 10.1148/radiol.2017161228.
 6. Honma K, Kirihaara S, Nakayama H, Fukuoka T, Ohara T, Kitamori K, Sato I, Hirohata S, Fujii M, Yamamoto S, Ran S, Watanabe S. Selective autophagy associated with iron overload aggravates non-alcoholic steatohepatitis via ferroptosis. *Exp Biol Med (Maywood).* 2023 Jul;248(13):1112–1123. doi: 10.1177/15353702231191197.
 7. Piperno A, Vergani A, Salvioni A, Trombini P, Vigano M, Riva A, Zoppo A, Boari G, Mancina G. Effects of venesections and restricted diet in patients with the insulin-resistance hepatic iron overload syndrome. *Liver Int.* 2004 Oct;24(5):471–6. doi: 10.1111/j.1478-3231.2004.0988.x.
 8. Lahaye C, Gladine C, Pereira B, Berger J, Chinetti-Gbaguidi G, Laine F, Mazur A, Ruivard M. Does iron overload in metabolic syndrome affect macrophage profile? A case control study. *J Trace Elem Med Biol.* 2021 Sep;67:126786. doi: 10.1016/j.jtemb.2021.126786.
 9. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Shapovalova Yu. O., Kurtser M. A., Chuchalin A. G. COVID-19 and iron deficiency anemia: relationships of pathogenesis and therapy. *Akusherstvo, Ginekologiya i Reprodukcia = Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2020;14(5):654–665. (in Russ.) doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.179.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Шаповалова Ю. О., Курцер М. А., Чучалин А. Г. COVID-19 и железодефицитная анемия: взаимосвязи патогенеза и терапии. *Акушерство, Гинекология и Репродукция.* 2020;14(5):654–665. doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.179.
 10. Torshin I. Yu., Gromova O. A., Chuchalin A. G., Zhuravlev Yu. I. Chemoreactome screening of the effects of pharmacological drugs on SARS-CoV-2 and human viromes as an information basis for making decisions on the pharmacotherapy of COVID-19. *PHARMACOECONOMICS. Modern pharmacoeconomics and pharmacoepidemiology.* 2021;14(2):191–211. (in Russ.) doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2021.078.
Торшин И. Ю., Громова О. А., Чучалин А. Г., Журавлев Ю. И. Хемореактомный скрининг воздействия фармакологических препаратов на SARS-CoV-2 и виром человека как информационная основа для принятия решений по фармакотерапии COVID-19. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2021;14(2):191–211. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2021.078.
 11. Torshin I. Yu., Gromova O. A., Stakhovskaya L. V. et al. Analysis of 19.9 million publications of the PubMed/MEDLINE database using artificial intelligence methods: approaches to summarizing the accumulated data and the «fake news» phenomenon. *PHARMACOECONOMICS. Modern pharmacoeconomics and pharmacoepidemiology.* 2020;13(2):146–163. (in Russ.) doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.02.
Торшин И. Ю., Громова О. А., Стаховская Л. В., Ванчакова Н. П., Галустян А. Н., Кобалава Ж. Д., Гришина Т. Р., Громов А. Н., Иловайская И. А., Коденцова В. М., Калачева А. Г., Лиманова О. А., Максимов В. А., Малявская С. И., Мозговая Е. В., Тапильская Н. И., Рудаков К. В., Семенов В. А. Анализ 19,9 млн публикаций базы данных PubMed/MEDLINE методами искусственного интеллекта: подходы к обобщению накопленных данных и феномен «fake news». *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020;13(2):146–163. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.02.
 12. Zhu M, Chen H, Zhou S, Zheng L, Li X, Chu R, Chen W, Wang B, Wang M, Chai Z, Feng W. Iron oxide nanoparticles aggravate hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease through BMP-SMAD-mediated hepatic iron overload. *Nanotoxicology.* 2021 Aug;15(6):761–778. doi: 10.1080/17435390.2021.1919329.
 13. Zhang L, Dai X, Wang L, Cai J, Shen J, Shen Y, Li X, Zhao Y. Iron overload accelerated lipid metabolism disorder and liver injury in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Front Nutr.* 2022 Oct 11;9:961892. doi: 10.3389/fnut.2022.961892.
 14. Crawford DHG, Ross DGF, Jaskowski LA, Burke LJ, Britton LJ, Musgrave N, Briskey D, Rishi G, Bridle KR, Subramaniam VN. Iron depletion attenuates steatosis in a mouse model of non-alcoholic fatty liver disease: Role of iron-dependent pathways. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2021 Jul 1;1867(7):166142. doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166142.
 15. Shen Y, Li X, Xiong S, Hou S, Zhang L, Wang L, Dai X, Zhao Y. Untargeted metabolomic analysis of non-alcoholic fatty liver disease with iron overload in rats via UPLC/MS. *Free Radic Res.* 2023 Dec;57(3):195–207. doi: 10.1080/10715762.2023.2226315.
 16. Zhang X, Zuo R, Xiao S, Wang L. Association between iron metabolism and non-alcoholic fatty liver disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2017–2018) and a controlled animal study. *Nutr Metab (Lond).* 2022 Dec 13;19(1):81. doi: 10.1186/s12986-022-00715-y.
 17. Tan L, Zhou Q, Liu J, Liu Z, Shi R. Association of iron status with non-alcoholic fatty liver disease and liver fibrosis in US adults: a cross-sectional study from NHANES 2017–2018. *Food Funct.* 2023 Jun 19;14(12):5653–5662. doi: 10.1039/d2fo4082d.
 18. Hu Z, Li Y, Ma B, Lei S, Wang X. Iron metabolism mediates the relationship between Vitamin C and hepatic steatosis and fibrosis in NAFLD. *Front Nutr.* 2022 Sep 8;9:952056. doi: 10.3389/fnut.2022.952056.
 19. Yang HH, Chen GC, Li DM, Lan L, Chen LH, Xu JY, Qin LQ. Serum iron and risk of nonalcoholic fatty liver disease and advanced hepatic fibrosis in US adults. *Sci Rep.* 2021 May 17;11(1):10387. doi: 10.1038/s41598-021-89991-x.
 20. Eder SK, Feldman A, Streibinger G. et al. Mesenchymal iron deposition is associated with adverse long-term outcome in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2020 Aug;40(8):1872–1882. doi: 10.1111/liv.14503.
 21. Yu YC, Luu HN, Wang R, Thomas CE, Glynn NW, Youk AO, Behari J, Yuan JM. Serum Biomarkers of Iron Status and Risk of Hepatocellular Carcinoma Development in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cancer*

- Epidemiol Biomarkers Prev.* 2022 Jan;31(1):230–235. doi: 10.1158/1055-9965.
22. Qu HJ, Wang L, Zhuang ZJ, Yang WJ, Ding JP, Shi JP. [Studying the correlation between ferritin and non-alcoholic fatty liver disease]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* 2021 Nov 20;29(11):1089–1094. doi: 10.3760/cma.j.cn501113-20200720-00402.
 23. Hagström H, Nasr P, Bottai M, Ekstedt M, Kechagias S, Hultcrantz R, Stål P. Elevated serum ferritin is associated with increased mortality in non-alcoholic fatty liver disease after 16 years of follow-up. *Liver Int.* 2016 Nov;36(11):1688–1695. doi: 10.1111/liv.13144.
 24. Messner DJ, Rhieu BH, Kowdley KV. Iron overload causes oxidative stress and impaired insulin signaling in AML-12 hepatocytes. *Dig Dis Sci.* 2013 Jul;58(7):1899–908. doi: 10.1007/s10620-013-2648-3.
 25. Murotomi K, Tawara H, Sutoh M, Yasunaga M. Iron-accumulating splenocytes may exacerbate non-alcoholic steatohepatitis through the production of proinflammatory cytokines and reactive oxygen species. *Exp Biol Med (Maywood).* 2022 May;247(10):848–855. doi: 10.1177/15353702221077218.
 26. Marti-Aguado D., Ten-Esteve A., Baracaldo-Silva C. M. et al. Pancreatic steatosis and iron overload increases cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Aug 3;14:1213441. doi: 10.3389/fendo.2023.1213441.
 27. Ittermann T., Khattak R. M., Markus M. R. P. et al. Association between thyroid function and assessment of hepatic fat and iron contents by magnetic resonance imaging. *Endocr Connect.* 2022 Feb 16;11(2): e210566. doi: 10.1530/EC-21-0566.
 28. Xu J, Sun W, Yang L. Association between iron metabolism and cognitive impairment in older non-alcoholic fatty liver disease individuals: A cross-sectional study in patients from a Chinese center. *Medicine (Baltimore).* 2019 Nov;98(48):e18189. doi: 10.1097/MD.00000000000018189.
 29. Hilton C, Sabaratnam R, Drakesmith H, Karpe F. Iron, glucose and fat metabolism and obesity: an intertwined relationship. *Int J Obes (Lond).* 2023 Jul;47(7):554–563. doi: 10.1038/s41366-023-01299-0.
 30. Gromova OA, Torshin Iu, Tetrushvili NK, Gogoleva IV. Sistematičeskii analiz farmakologičeskikh svoistv proteina suksinilatazheleza. *Effektivnaia farmakoterapiia.* 2018;13:20–9. (in Russ.)
Громова О. А., Торшин И. Ю., Тетруашвили Н. К., Гоголева И. В. Систематический анализ фармакологических свойств протеина сукцинилата железа. Эффективная фармакотерапия. 2018;13:20–9.
 31. Sharma R, Zhao W, Zafar Y, Murali AR, Brown KE. Serum hepcidin levels in chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2023 Aug 7. doi: 10.1515/cclm-2023-0540.
 32. Chen J, Li X, Ge C, Min J, Wang F. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease. *Cell Death Differ.* 2022 Mar;29(3):467–480. doi: 10.1038/s41418-022-00941-0.
 33. Lu S, Bennett RG, Kharbanda KK, Harrison-Findik DD. Lack of hepcidin expression attenuates steatosis and causes fibrosis in the liver. *World J Hepatol.* 2016 Feb 8;8(4):211–25. doi: 10.4254/wjh.v8.i4.211.
 34. Boga S, Alkim H, Alkim C, Koksall AR, Bayram M, Yilmaz Ozguven MB, Tekin Neijmann S. The Relationship of Serum Hemojuvelin and Hepcidin Levels with Iron Overload in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Gastrointest Liver Dis.* 2015 Sep;24(3):293–300. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.243.hak.
 35. Protchenko O., Baratz E., Jadhav S. et al. Iron Chaperone Poly rC Binding Protein 1 Protects Mouse Liver From Lipid Peroxidation and Steatosis. *Hepatology.* 2021 Mar;73(3):1176–1193. doi: 10.1002/hep.31328.
 36. Zhang H, Zhang E, Hu H. Role of Ferroptosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Its Implications for Therapeutic Strategies. *Biomedicines.* 2021 Nov 10;9(11):1660. doi: 10.3390/biomedicines9111660.
 37. Tsurusaki S., Tsuchiya Y., Koumura T. et al. Hepatic ferroptosis plays an important role as the trigger for initiating inflammation in nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Death Dis.* 2019 Jun 18;10(6):449. doi: 10.1038/s41419-019-1678-y.
 38. Aslam H., Oza F., Ahmed K., et al. The Role of Red Cell Distribution Width as a Prognostic Marker in Chronic Liver Disease: A Literature Review. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 9;24(4):3487. doi: 10.3390/ijms24043487.
 39. Xu L, Liu W, Bai F, Xu Y, Liang X, Ma C, Gao L. Hepatic Macrophage as a Key Player in Fatty Liver Disease. *Front Immunol.* 2021 Dec 9;12:708978. doi: 10.3389/fimmu.2021.708978.
 40. Handa P, Thomas S, Morgan-Stevenson V, Maliken BD, Gochanour E, Boukhar S, Yeh MM, Kowdley KV. Iron alters macrophage polarization status and leads to steatohepatitis and fibrogenesis. *J Leukoc Biol.* 2019 May;105(5):1015–1026. doi: 10.1002/JLB.3A0318-108R.
 41. Fujiwara S, Izawa T, Mori M, Atarashi M, Yamate J, Kuwamura M. Dietary iron overload enhances Western diet induced hepatic inflammation and alters lipid metabolism in rats sharing similarity with human DIOS. *Sci Rep.* 2022 Dec 10;12(1):21414. doi: 10.1038/s41598-022-25838-3.
 42. Li H, Hu L, Wang L, Wang Y, Shao M, Chen Y, Wu W, Wang L. Iron Activates cGAS-STING Signaling and Promotes Hepatic Inflammation. *J Agric Food Chem.* 2022 Feb 23;70(7):2211–2220. doi: 10.1021/acs.jafc.1c06681.
 43. Gudan A, Kozłowska-Petriczko K, Wunsch E, Bodnarczuk T, Stachowska E. Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: What Do We Know in 2023? *Nutrients.* 2023 Mar 8;15(6):1323. doi: 10.3390/nu15061323.
 44. Mayneris-Perxachs J., Cardellini M., Hoyles L. et al. Iron status influences non-alcoholic fatty liver disease in obesity through the gut microbiome. *Microbiome.* 2021 May 7;9(1):104. doi: 10.1186/s40168-021-01052-7.
 45. Muzica C. M., Sfarti C., Trifan A. et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Type 2 Diabetes Mellitus: A Bidirectional Relationship. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2020 Dec 28;2020:6638306. doi: 10.1155/2020/6638306.
 46. Ma W, Jia L, Xiong Q, Feng Y, Du H. The role of iron homeostasis in adipocyte metabolism. *Food Funct.* 2021 May 21;12(10):4246–4253. doi: 10.1039/d0fo03442h.
 47. Altamura S, Müdder K, Schlotterer A, Fleming T, Heidenreich E, Qiu R, Hammes HP, Nawroth P, Muckenthaler MU. Iron aggravates hepatic insulin resistance in the absence of inflammation in a novel db/db mouse model with iron overload. *Mol Metab.* 2021 Sep;51:101235. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101235.
 48. Niedermayer F, Su Y., von Krüchten R. et al. Trajectories of glycaemic traits exhibit sex-specific associations with hepatic iron and fat content: Results from the KORA-MRI study. *Liver Int.* 2023 Oct;43(10):2153–2166. doi: 10.1111/liv.15635.
 49. Wang JW, Jin CH, Ke JF, Ma YL, Wang YJ, Lu JX, Li MF, Li LX. Serum iron is closely associated with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in type 2 diabetes: A real-world study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Sep 5;13:942412. doi: 10.3389/fendo.2022.942412.
 50. Gromova OA, Torshin Iu, Grishina TR, Tomilova IK. Value of the use of iron preparations and molecular

- synergists for the prevention and treatment of iron-deficiency anemia in pregnant women. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2015;15(4):85–94. (In Russ.) doi: 10.17116/rosakush201515485-94.
- Громова О. А., Торшин И. Ю., Гришина Т. Р. Значение использования препаратов железа и его молекулярных синергистов для профилактики и лечения железодефицитной анемии у беременных. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2015;15(4):85–94. doi: 10.17116/rosakush201515485-94.
51. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Khadzidhis A. K. Analysis of the molecular mechanisms of the effects of iron (II), copper, manganese in the pathogenesis of iron deficiency anemia. *Clinical pharmacology and pharmacoeconomics*. 2010, 1: 1–9. (in Russ.)
Громова О. А., Торшин И. Ю., Хаджидис А. К. Анализ молекулярных механизмов воздействия железа (II), меди, марганца в патогенезе железодефицитной анемии. *Клиническая фармакология и фармакоэкономика*, 2010, 1: 1–9.
 52. Asprouli E., Kalafati I. P., Sakellari A. et al. Evaluation of Plasma Trace Elements in Different Stages of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biol Trace Elem Res*. 2019 Apr;188(2):326–333. doi: 10.1007/s12011-018-1432-9.
 53. Morrell A., Tallino S., Yu L., Burkhead J. L. The role of insufficient copper in lipid synthesis and fatty-liver disease. *IUBMB Life*. 2017 Apr;69(4):263–270. doi: 10.1002/iub.1613.
 54. Corradini E., Buzzetti E., Dongiovanni P. et al. Ceruloplasmin gene variants are associated with hyperferritinemia and increased liver iron in patients with NAFLD. *J Hepatol*. 2021 Sep;75(3):506–513. doi: 10.1016/j.jhep.2021.03.014.
 55. Xia Z., Hu M., Zheng L., Zheng E., Deng M., Wu J., Sheng X. Assessing whether serum ceruloplasmin promotes non-alcoholic steatohepatitis via regulating iron metabolism. *J Med Biochem*. 2023 Jan 20;42(1):113–121. doi: 10.5937/jomb0-37597.
 56. Wang Q., Zhou D., Wang M., Zhu M., Chen P., Li H., Lu M., Zhang X., Shen X., Liu T., Chen L. A Novel Non-Invasive Approach Based on Serum Ceruloplasmin for Identifying Non-Alcoholic Steatohepatitis Patients in the Non-Diabetic Population. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Jun 20;9:900794. doi: 10.3389/fmed.2022.900794.
 57. Nasr P., Ignatova S., Lundberg P., Kechagias S., Ekstedt M. Low hepatic manganese concentrations in patients with hepatic steatosis — A cohort study of copper, iron and manganese in liver biopsies. *J Trace Elem Med Biol*. 2021 Sep;67:126772. doi: 10.1016/j.jtemb.2021.126772.
 58. Choi J., Choi H., Chung J. Icariin Supplementation Suppresses the Markers of Ferroptosis and Attenuates the Progression of Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice Fed a Methionine Choline-Deficient Diet. *Int J Mol Sci*. 2023 Aug 7;24(15):12510. doi: 10.3390/ijms241512510.
 59. Liu H., Yan J., Guan F., Jin Z., Xie J., Wang C., Liu M., Liu J. Zeaxanthin prevents ferroptosis by promoting mitochondrial function and inhibiting the p53 pathway in free fatty acid-induced HepG2 cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2023 Apr;1868(4):159287. doi: 10.1016/j.bbalip.2023.159287.
 60. Guan Q., Wang Z., Hu K., Cao J., Dong Y., Chen Y. Melatonin Ameliorates Hepatic Ferroptosis in NAFLD by Inhibiting ER Stress via the MT2/cAMP/PKA/IRE1 Signaling Pathway. *Int J Biol Sci*. 2023 Jul 31;19(12):3937–3950. doi: 10.7150/ijbs.85883.
 61. Qi X., Song A., Ma M., Wang P., Zhang X., Lu C., Zhang J., Zheng S., Jin H. Curcumin inhibits ferritinophagy to restrain hepatocyte senescence through YAP/NCOA4 in non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Prolif*. 2021 Sep;54(9):e13107. doi: 10.1111/cpr.13107.
 62. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Chuchalin A. G., Maksimov V. A. Human placenta hydrolysates: from V. P. Filatov to the present day. *Terapevticheskie Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2022;94(3):434–441. doi: 10.26442/00403660.2022.03.201408.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Чучалин А. Г., Максимов В. А. Гидролизаты плаценты человека: от В. П. Филатова до наших дней. *Терапевтический архив*. 2022;94(3):434–441. doi: 10.26442/00403660.2022.03.201408.
 63. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Minushkin O. N., Dibrova E. A., Karimova I. M., Kustova E. V. [On the effectiveness and molecular mechanisms of action of the drug Laennec in the treatment of pathological conditions of the liver associated with iron deposition in the liver]. *Medical journal «Business of Life»*. 2015;1(1):44–51.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Минушкин О. Н., Диброва Е. А., Каримова И. М., Кустова Е. В. Об эффективности и молекулярных механизмах действия препарата Лаеннек в лечении патологических состояний печени, связанных с отложением железа в печени. *Медицинский журнал «Дело жизни»*. 2015;1(1): 44–51.
 64. Nazarenko O. A., Gromova O. A., Grishina T. R. et al. Correction by Laennec of chronic iron overload liver, kidneys and brain. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(2):39–44. (In Russ.)
Назаренко О. А., Громова О. А., Гришина Т. Р., Торшин И. Ю., Демидов В. И., Томилова И. К., Алексихина Е. Л., Гоголева И. В. Коррекция Лаеннеком хронической перегрузки железом печени, почек и головного мозга. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2017;(2):39–44.
 65. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Maksimov V. A. et al. Peptides contained in the composition of Laennec that contribute to the treatment of hyperferritinemia and iron overload disorders. *FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2020;13(4):413–425. (In Russ.) doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.070.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Максимов В. А., Чучалин А. Г., Згода В. Г., Громов А. Н., Тихонова О. В. Пептиды в составе препарата Лаеннек, способствующие устранению гиперферритинемии и перегрузки железом. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2020;13(4):413–425. doi: 10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.070.
 66. Maksimov V. A., Torshin I. Yu., Chuchalin A. G. et al. An experience of using Laennec in patients at high risk of a cytokine storm with COVID-19 and hyperferritinemia. *Pul'monologiya*. 2020; 30 (5): 587–598. (in Russ.) doi: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-587-598.
Максимов В. А., Торшин И. Ю., Чучалин А. Г., Лазебник Л. Б., Ткачева О. Н., Стражеско И. Д., Громова О. А. Опыт применения препарата Лаеннек у пациентов с высоким риском развития «цитокинового шторма» на фоне COVID-19 и гиперферритинемии. *Пульмонология*. 2020; 30 (5): 587–598. doi: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-587-598.
 67. Clinical guidelines [Non-alcoholic fatty liver disease in adults]. (in Russ.) Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/748_1. accessed 10/30/2023.
Клинические рекомендации «Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых», https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/748_1, доступ 30.10.2023.

К статье

Систематический анализ взаимосвязей между неалкогольной жировой болезнью печени и перегрузкой тканей железом: перспективные направления применения полипептидной терапии (стр. 139–152)

To article

Systematic analysis of the relationship between non-alcoholic fatty liver disease and tissue iron overload: promising areas for the use of polypeptide therapy (p. 139–152)



Рис 1. Патофизиология неалкогольная жировая болезнь печени

Fig 1. Pathophysiology of non-alcoholic fatty liver disease

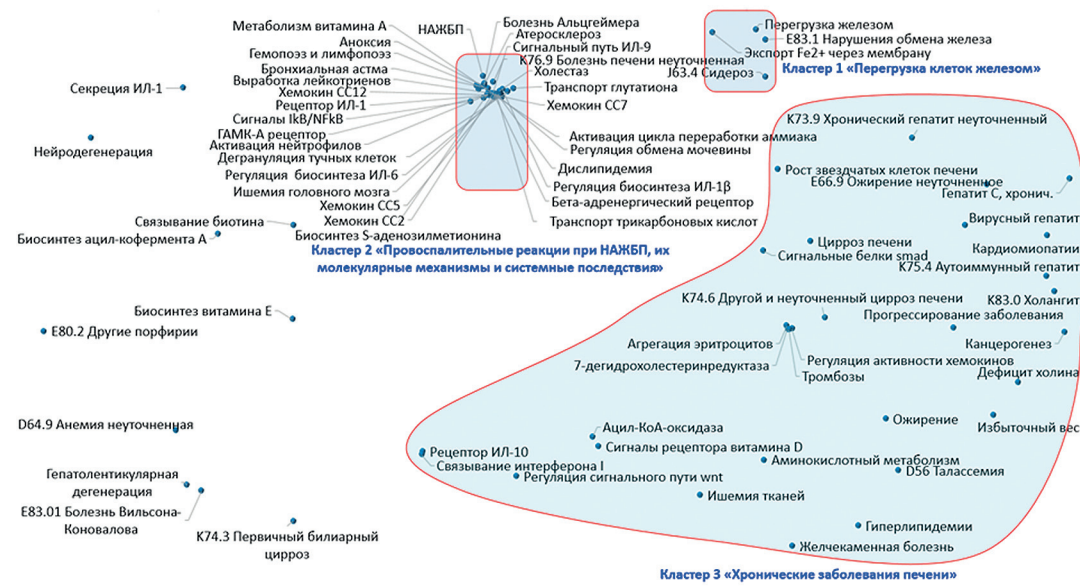
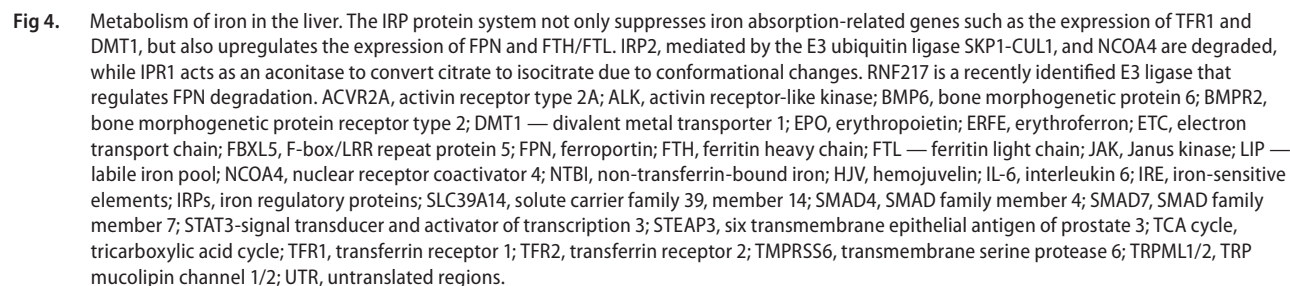
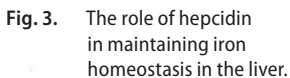


Рис. 2. Метрическая карта наиболее информативных терминов, описывающих взаимосвязи между перегрузкой железом и НАЖБП. Расстояние между точками, соответствующими терминам, обратно пропорционально совместной встречаемости терминов в исследованной выборке публикаций (чем ближе две произвольные точки, тем чаще встречается совместное употребление двух соответствующих терминов).

Fig 2. A metric map of the most informative terms describing the relationship between iron overload and NAFLD. The distance between the points corresponding to the terms is inversely proportional to the co-occurrence of the terms in the studied sample of publications (the closer the two arbitrary points, the more common the co-occurrence of the two corresponding terms).



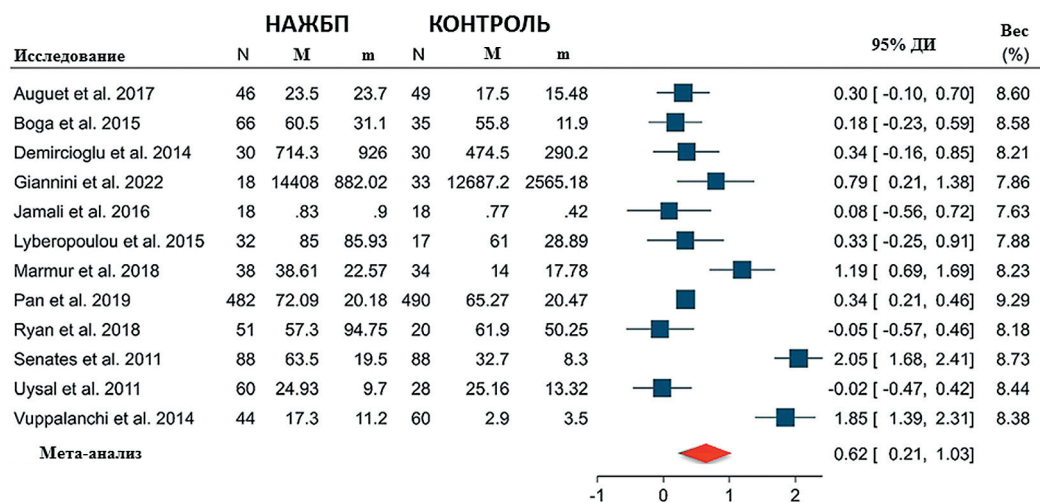


Рис. 5. Метаанализ исследований уровней гепсидина в сыворотке крови у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени

Fig. 5. Meta-analysis of studies of serum hepcidin levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease

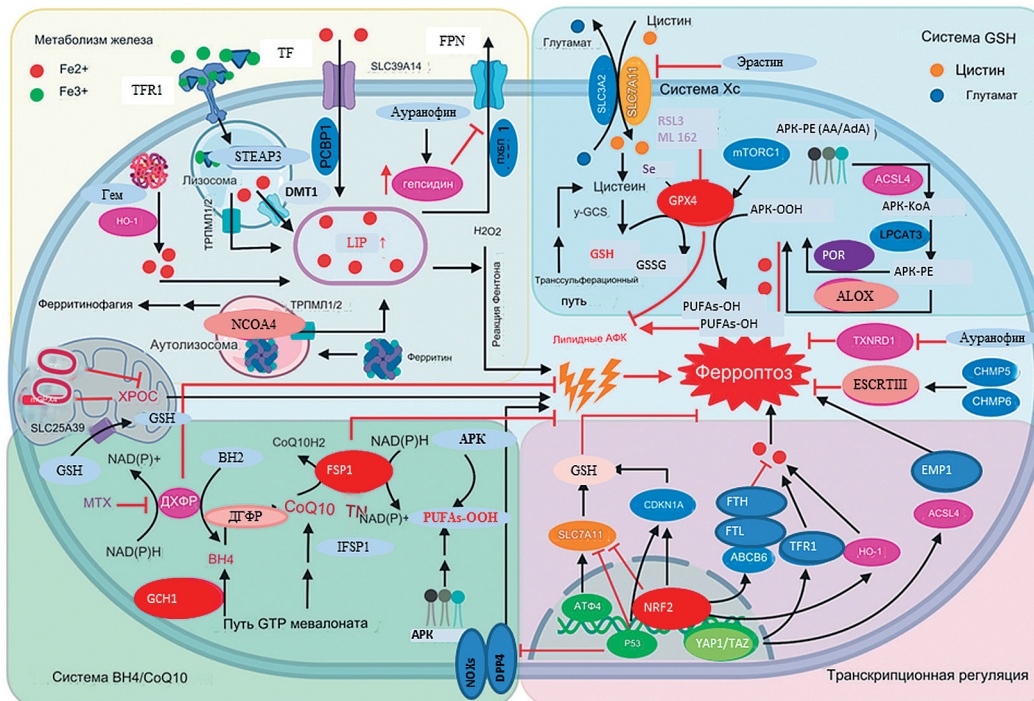


Рис. 6. Регуляторные сигнальные пути и защитные механизмы, участвующие в процессе ферроптоза. Метаболизм железа связан с ферроптозом (вверху слева). ACSL4 и LPCAT3 необходимы для ферроптоза с образованием ПНЖК (арахидоновая кислота и другие омега-6). Активация ферментов ALOX, POR или NOX способствует перекисному окислению липидов; активация комплекса ESCRT восстанавливает мембраны. Перекисное окисление фосфолипидов устраняется тремя параллельными механизмами: (1) цистеин/ГSH/GPX4, (2) CoQ10/FSP1 и (3) GCH1/BH4/DHFR (внизу слева). В митохондриях ферменты DHODH и mitoGPX4 участвуют в нейтрализации активных форм кислорода (АФК). Факторы транскрипции p53, NRF2, ATF4 и YAP/TAZ регулируют гены ферроптоза при окислительном стрессе (внизу справа). Сокращения: ABCB6, член 6 подсемейства В АТФ-связывающей кассеты; LOX, липоксигеназы; ACSL4, член 4 семейства длинноцепочечных ацил-КоА-синтаз; ATF4, активирующий фактор транскрипции 4; BACH1, домен BTB и гомолог 1 CNC; BH2—7,8-дигидробиоптерин; BH4 — тетрагидробиоптерин; CDKN1A, ингибитор циклинзависимой киназы p21; CHMP5/6 — белок, моделирующий хроматин 5/6; CoQ10H2, убихинол; GCH1 — гуанозинтрифосфатциклогидролаза 1; ДГФР — дигидрофолатредуктаза; DHODH — дигидрооротатдегидрогеназа; DDP4, дипептидилпептидаза-4; DMT1, переносчик двухвалентных металлов1; EMP1, белок 1 эпителиальной мембраны; ESCRT-III, эндосомальный сортировочный комплекс, необходимый для транспорта III; FPN, Ферропортин; FSP1, белок-супрессор ферроптоза 1; FTH, тяжелая цепь ферритина; FTL — легкая цепь ферритина; ГКС — глутамилцистеинсинтаза; GPX4, глутатионпероксидаза 4; GCH1 — гуанозинтрифосфатциклогидролаза 1; GSH, глутатион; HO-1, гемоксигеназа 1; LIP — пул лабильного железа; LPCAT3, лизофосфатидилхолин-ацилтрансфераза 3; MTX, метотрексат; mTORC1, механистическая мишень рапамицинового комплекса 1; NRF2, ядерный фактор, связанный с эритроидом 2; NCOA4, коактиватор ядерного рецептора 4; PCBP1 — поли(RC)-связывающие белки; POR — НАДФН-цитохром Р450 редуктаза; ПНЖК — полиненасыщенные жирные кислоты; АФК — активные формы кислорода; STEAP3, шеститрансмембранный эпителиальный антиген простаты 3; TF, трансферрин; TFR1, рецептор трансферрина 1; TXNRD1, тиоредоксинредуктаза 1; TRPML1/2, муколипид TRP канал 1/2.

Рис. 8. Перекрестные взаимодействия макрофагов с другими клетками и перепрограммирование печеночных макрофагов. При патологических состояниях печеночные макрофаги взаимодействуют с другими клетками и перепрограммируются. ГЦК, гепатоцеллюлярная карцинома; ЗКП, звездчатые клетки печени; KCs — купферовские клетки; МДМ, макрофаги мононуклеарного происхождения.

Fig. 8. Cross-talk between macrophages and other cells and reprogramming of hepatic macrophages. Under pathological conditions, hepatic macrophages interact with other cells and are reprogrammed. HCC, hepatocellular carcinoma; HSC, hepatic stellate cells; KCs — Kupffer cells; MDM, macrophages of mononuclear origin.

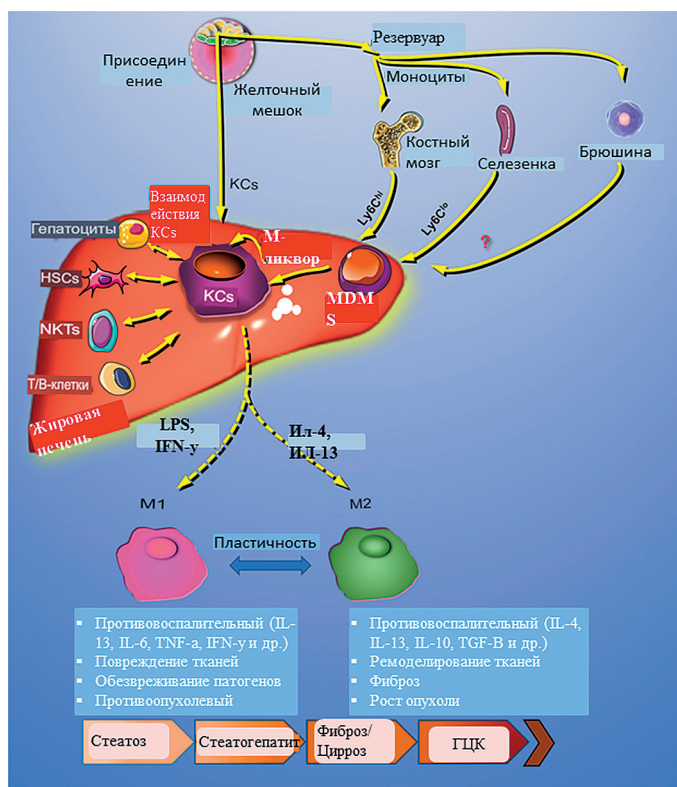


Рис. 9. Печеночные макрофаги и патогенез НАЖБП. АТФ, аденозинтрифосфат; ЭР — эндоплазматическая сеть; NLRs, нуклеотидсвязывающие доменоподобные рецепторы; ОА, олеиновая кислота; ПА, пальмитиновая кислота; P2X7, пуриновый рецептор P2X 7; АФК — активные формы кислорода; S100A8, S100 кальцийсвязывающие белки A8; SR-A, рецептор-мусорщик-A; TLRs, Toll-подобные рецепторы; UPR, развернутый белковый ответ.

Fig. 9. Hepatic macrophages and the pathogenesis of NAFLD. ATP, adenosine triphosphate; ER — endoplasmic reticulum; NLRs, nucleotide-binding domain-like receptors; OA, oleic acid; PA, palmitic acid; P2X7, purinoreceptor P2X 7; ROS — reactive oxygen species; S100A8, S100 calcium-binding proteins A8; SR-A, scavenger receptor-A; TLRs, Toll-like receptors; UPR, unfolded protein response.

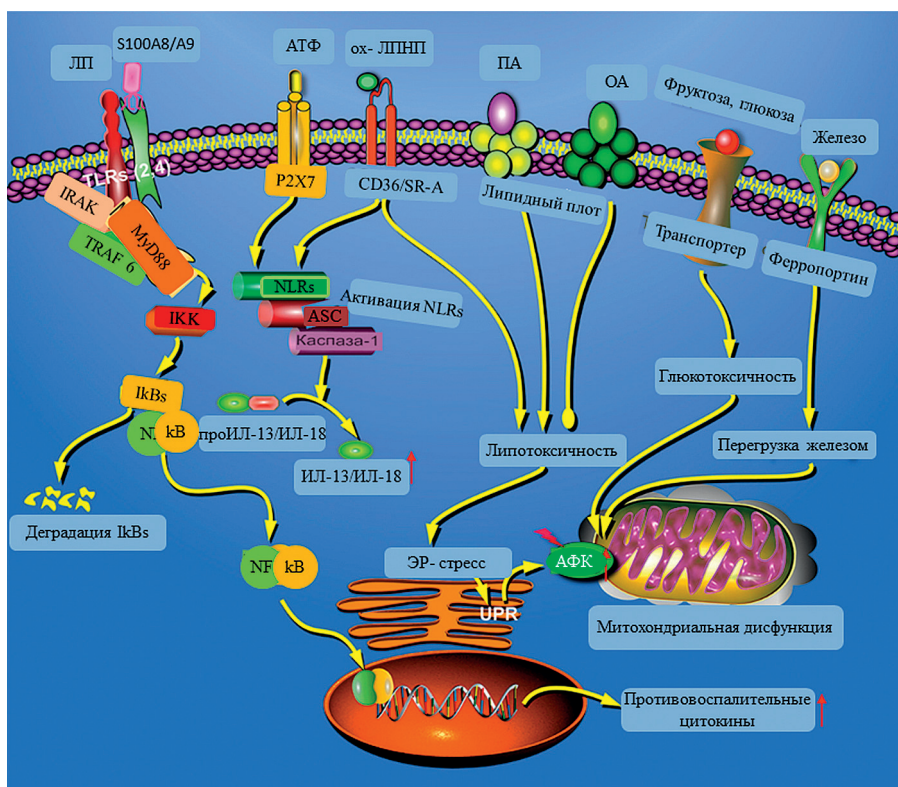


Рис. 10. Биомаркеры гомеостаза железа (а) сывороточное железо, (б) содержание железа в печени, (в) насыщение трансферрина и (г) экспрессия мРНК гепсидина в печени на 26-й неделе. (г) Данные нормализованы по уровням 18S рРНК и выражены как кратное изменение по сравнению с контролем. (е) Содержание малонового диальдегида (MDA) в печени на 26-й неделе, измеренное методом веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. (ф) Соотношение содержания глутатиона (GSH)/окисленного глутатиона (GSSG) в печени на 26 неделе. Данные представлены в виде прямоугольника и «усов» (n=4/группа). *P < 0.05 по сравнению с Cont, †P < 0.05 по сравнению с WD и § P < 0.05 по сравнению с Fe. Окраска на железо по Перлсу на 26-й неделе: (г) контроль, (д) западная диета, (е) западная диета + перегрузка железом и (ж) перегрузка железом. Масштабная планка 50 мкм. Иммуногистохимия для белка-транспортёра железа Iba1 в сочетании с окрашиванием железом Перлса в группах (з) западная диета + Fe и (и) перегрузка железом. Наконечники стрелок указывают на накопление железа (синий цвет) в Iba1-положительных макрофагах/клетках Купфера (оричневый цвет). Масштабная планка 30 мкм.

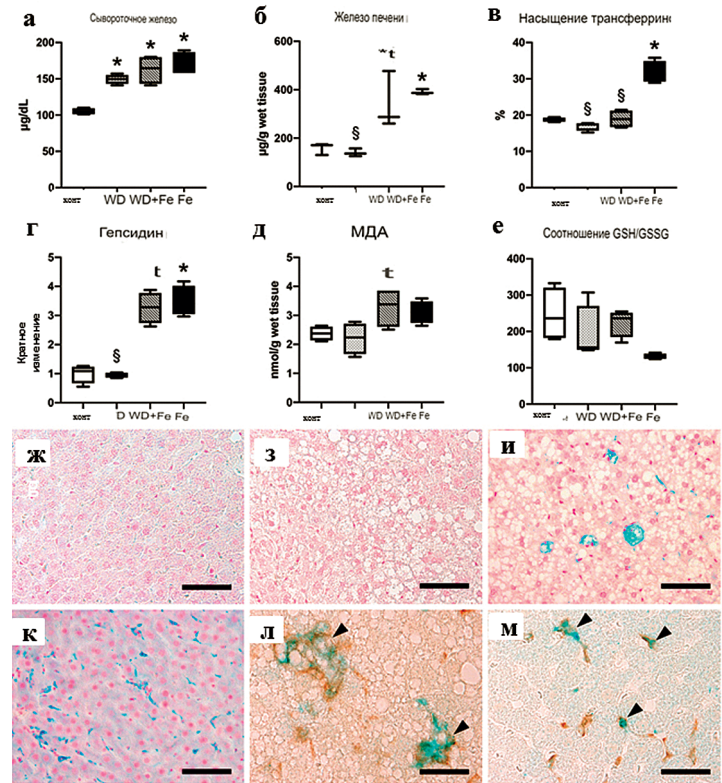


Fig.10. Biomarkers of iron homeostasis (a) serum iron, (b) hepatic iron content, (c) transferrin saturation, and (d) hepcidin mRNA expression in the liver at 26 weeks. (e) Data are normalized to 18S rRNA levels and expressed as fold change relative to control. (f) Liver malondialdehyde (MDA) content at week 26 measured by the thiobarbituric acid reactive substance method. (g) Liver glutathione (GSH)/oxidized glutathione (GSSG) ratio at 26 weeks. Data are presented as box and whiskers (n=4/group). *P < 0.05 versus Cont, †P < 0.05 versus WD, and § P < 0.05 versus Fe. Perl's iron stain at 26 weeks: (g) control, (h) Western diet, (i) Western diet + iron overload, and (j) iron overload. Scale bar 50 µm. Immunohistochemistry for iron transport protein Iba1 combined with Perl's iron staining in groups (k) Western diet + Fe and (l) iron overload. Arrowheads indicate iron accumulation (blue) in Iba1-positive macrophages/Kupffer cells (orange). Scale bar 30 µm.

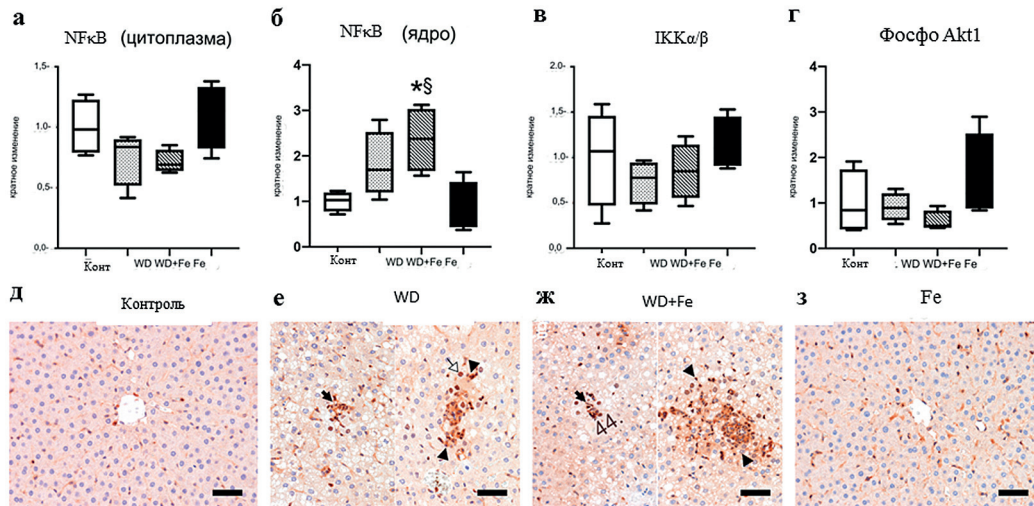


Рис 11. Экспрессия NFκB в печени в (а) цитоплазматической и (б) ядерной фракциях, а также (в) фосфокиназах IκB и (д) фосфо Akt в лизате цельной ткани печени на 26 неделе. GAPDH использовали для контроля белковой нагрузки во всей ткани/цитоплазматической фракции, гистон H2B — для ядерной фракции. Данные выражены как кратное изменение по сравнению с контролем и представлены в виде прямоугольника и «усов» (n=4/группа). *P < 0.05 по сравнению с контролем, § P < 0.05 по сравнению с Fe по данным однофакторного дисперсионного анализа с последующим множественным сравнением Тьюки. Изображения иммуногистохимии NFκB (p65 или RelA) в группах Cont (е), WD (ф), WD + Fe (г) и Fe (д). Бар=50 мкм.

Fig 11. Expression of NFκB in the liver in (a) cytoplasmic and (b) nuclear fractions, as well as (c) phosphokinases IκB and (d) phospho Akt in whole liver tissue lysate at 26 weeks. GAPDH was used to control protein load in the whole tissue/cytoplasmic fraction, histone H2B for the nuclear fraction. Data are expressed as fold change over control and represented by box and whiskers (n=4/group). *P < 0.05 compared with control, § P < 0.05 compared with Fe by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison. Immunohistochemistry images of NFκB (p65 or RelA) in Cont (e), WD (f), WD + Fe (g), and Fe (h) groups. Bar=50 µm.

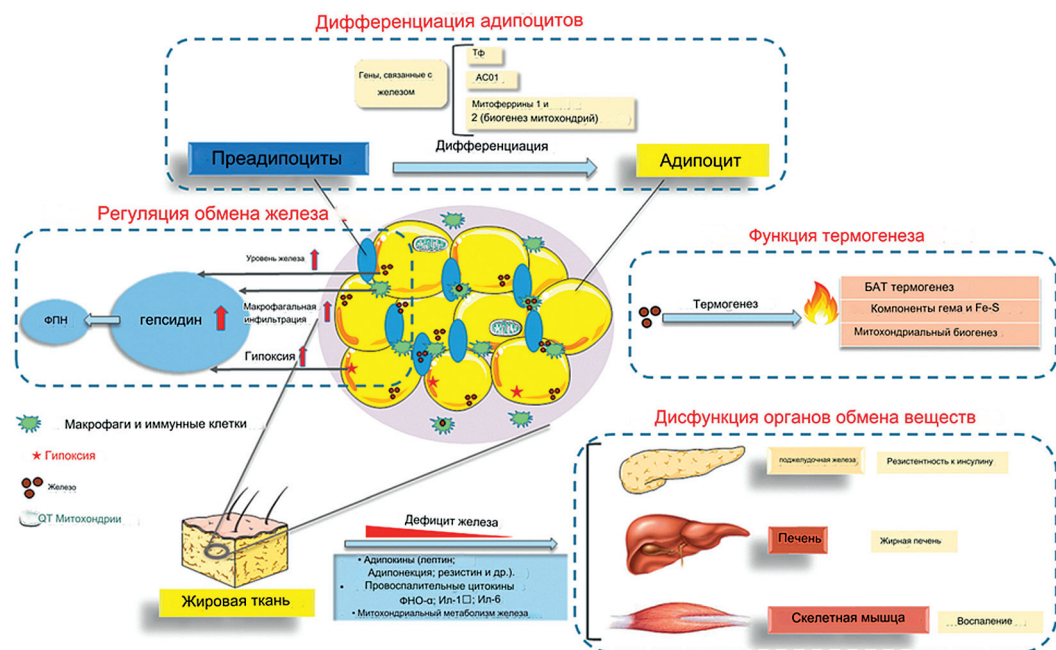


Рис. 12. Железо регулирует дифференцировку и термогенез адипоцитов, действуя как посредник между жировой тканью, поджелудочной железой, печенью и скелетной мускулатурой.

Fig. 12. Iron regulates adipocyte differentiation and thermogenesis, acting as an intermediary between adipose tissue, pancreas, liver and skeletal muscle.

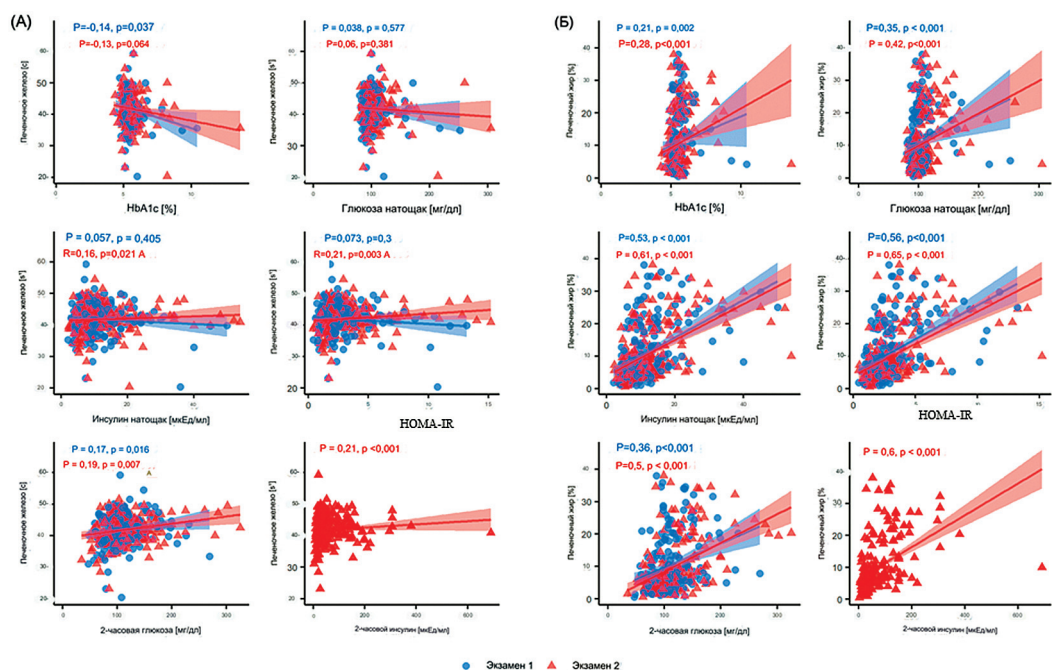


Рис. 13. Корреляция маркеров метаболизма глюкозы в крови с содержанием железа в печени по МРТ (А) и с содержанием жира в печени по МРТ (Б).

Fig. 13. Correlation of markers of glucose metabolism in the blood with iron content in the liver according to MRI (A) and with fat content in the liver according to MRI (B).