

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Гимадиев Р.Р.^{1,3}, Ниязов А.Р.², Мухин В.Е.¹, Огурцов П.П.¹

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МИКРОРНК ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Москва, Россия;

²ФГБНУ Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ - ИМБП РАН), 123007, Москва, Россия;

³ООО «Евротест», 129110, Москва, Россия

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) рассматривается как одна из ведущих причин развития хронических заболеваний печени во всем мире. Для подтверждения диагноза требуется биопсия печени, однако из-за инвазивности данная процедура не подходит для массового скрининга. Существующие лабораторные критерии первичного обследования пациентов с подозрением на НАЖБП, позволяющие уже на ранней стадии диагностировать развитие патологического процесса, в должной степени не удовлетворяют требованиям клиницистов. В то же время, крайне важно идентифицировать пациентов на начальных стадиях развития НАЖБП. Последние годы внимание исследователей было сосредоточено на расширении знаний о механизме развития НАЖБП и на новых диагностических инструментах. Накапливающиеся результаты исследований показывают, что развитие и прогрессирование НАЖБП регулируется эпигенетическими факторами, в частности семейством микрорибонуклеиновых кислот (микроРНК, miR), которые, в свою очередь, могут иметь высокую диагностическую и прогностическую ценность. В настоящем обзоре баз данных PubMed обсуждается потенциальная роль микроРНК в липидном обмене печени, а также патогенезе жировой болезни печени. Рассмотрены возможности использования микроРНК (микроРНК-16, микроРНК-21, микроРНК-34а, микроРНК-103, микроРНК-122, микроРНК-145, микроРНК-192 и других типов) как перспективных биомаркеров малоинвазивной диагностики НАЖБП, оценки степени активности и стадии стеатоза и фиброза, и в качестве прогностических маркеров течения заболевания. Обсуждаются их аналитические характеристики, преимущества и возможные ограничения их использования в клинической практике. Предварительные результаты исследований позволяют утверждать, что некоторые микроРНК являются крайне перспективным малоинвазивным диагностическим инструментом, что подтверждает необходимость дальнейшего изучения вклада конкретных микроРНК в патогенетические механизмы развития НАЖБП.

Ключевые слова: НАЖБП; микроРНК; биомаркеры; miR-21; miR-34a; miR-103; miR-122; miR-145; miR-192.

Для цитирования: Гимадиев Р.Р., Ниязов А.Р., Мухин В.Е., Огурцов П.П. Диагностическая значимость циркулирующих микроРНК при неалкогольной жировой болезни печени (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (12): 723-729. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-723-729>

Gimadiev R.P.^{1,3}, Niazov A.R.², Mukhin V.E.¹, Ogurtsov P.P.¹

THE DIAGNOSTIC IMPORTANCE OF CIRCULATING MICRORNA FOR NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: LITERATURE REVIEW

¹Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 117198, Moscow, Russia;

²Institute of Biomedical Problems of Russian Academy of Sciences, 123007, Moscow, Russia;

³LTD «Eurotest», 129110, Moscow, Russia

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the leading causes of chronic liver diseases in the world. The biopsy is required to confirm the diagnosis but due to its invasiveness, this procedure is not suitable for the massive screening. There are laboratory criteria of primary medical examination of the patients who are suspected to have NAFLD that allow diagnosing the pathological process, but these criteria do not comply with clinicians' requirements. At the same time, it is crucial to identify the patients in the initial stages of NAFLD. Recently, the attention of the scientists was concentrated on the research of the mechanism of NAFLD development and new diagnostic approaches. Accumulating results of this research show that NAFLD development is regulated with epigenetic factors, including microRNAs family (microRNA, miR), that may have high diagnostic and prognostic value. In this review, data extracted from PubMed are used to discuss the potential role of microRNA in the liver lipid metabolism and fatty liver disease. The possibilities of micro RNA (miR-16, miR-21, miR-34a, miR-103, miR-122, miR-145, miR-192, and others) use as prospective biomarkers for low-invasive NAFLD diagnostic, evaluation of steatosis activity and fibrosis score and stages, and prognostic markers of the disease are reviewed. This research discusses the analytical characteristics, benefits and possible limitations of their use in the clinical practice. The preliminary data allow claiming that some microRNAs are extremely perspective low-invasive diagnostic instrument and further research is required to investigate the impact of certain microRNAs in the pathogenetic mechanism of NAFLD development.

Key words: NAFLD; microRNA; biomarkers; miR-21; miR-34a; miR-103; miR-122; miR-145; miR-192.

For citation: Gimadiev R.P., Niazov A.R., Mukhin V.E., Ogurtsov P.P. The Diagnostic Importance of Circulating MicroRNA for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (review of literature). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (12): 723-729. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-723-729>

For correspondence: Gimadiev R.R., assistant of the Department of Hospital Therapy with courses of endocrinology, hematology and clinical laboratory diagnostics; e-mail: gimadiev_rr@rudn.university

Information about authors:

Gimadiev R. R., <http://orcid.org/0000-0002-9567-3317>

Mukhin V. E., <http://orcid.org/0000-0001-8973-7890>

Niiazov A. R., <http://orcid.org/0000-0002-1920-7189>

Ogurtsov P. P., <http://orcid.org/0000-0001-7939-891X>

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The publication has been prepared with the support of the «RUDN University Program 5-100».*

Received 01.09.2019

Accepted 18.10.2019

Введение. Неалкогольная жировая болезнь печени охватывает спектр клинко-морфологических состояний от бессимптомного стеатоза до неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) и может прогрессировать до фиброза, цирроза печени и, в ряде случаев, гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [1]. Стеатоз формируется при чрезмерном поглощении гепатоцитами высвобождающихся свободных жирных кислот, например, при метаболическом синдроме и инсулинорезистентности. В дополнение, биохимические нарушения, такие как оксидативный стресс, повышение синтеза провоспалительных медиаторов и апоптоз могут приводить к воспалению и фиброзу печени [2].

В настоящее время «золотым стандартом» для оценки гистологической картины печени у пациентов с НАЖБП остается биопсия печени. Тем не менее, ряд недостатков этой процедуры [3] привели к растущему интересу в поиске альтернативных неинвазивных и малоинвазивных методов оценки НАЖБП [4], основной стратегией повышения эффективности которой является определение тяжести воспаления и степени фиброза печени [5]. Существующие клинко-лабораторные критерии, в должной степени не удовлетворяют требованиям клиницистов, поэтому не прекращается поиск новых перспективных биомаркеров, позволяющих уже на ранней стадии диагностировать развитие патологического процесса. Настоящий обзор посвящен диагностическому потенциалу семейства микроРНК (miR) у пациентов с НАЖБП.

Патофизиологическое значение системы микроРНК. Значительную роль в развитии НАЖБП играют эпигенетические звенья патогенеза – механизмы изменения экспрессии генов, вызванные адаптивным механизмом и не связанным с изменением первичных последовательностей ДНК. Среди эпигенетических модификаций при НАЖБП наиболее изучены микроРНК. Они представляют собой короткие одноцепочечные молекулы РНК (21-25 нуклеотида), регулирующие экспрессию белков генов-мишеней на посттранскрипционной стадии с помощью механизмов, ингибирующих процесс трансляции или дегградации матричной РНК (мРНК), или их комбинацией. Действие микроРНК опосредовано их неполной гибридизацией с 3' – нетранслируемой областью целевой мРНК, имеющей комплементарные сайты [6]. МикроРНК проявляют разнообразные биологические функции, связанные с патогенезом НАЖБП, включая регуляцию метаболизма липидов и глюкозы, окисли-

тельного, стресса эндоплазматического ретикулума, клеточной дифференцировки, воспаления, апоптоза и др. [7].

Было выявлено, что избыточная экспрессия miR-34a приводит к увеличению ацетилирования p53 и активации p53-индуцированного апоптоза гепатоцитов за счет регуляции экспрессии сиртуина 1 (SIRT1) в экспериментальных моделях у крыс [8]. Ингибирование miR-34a приводит к активации транскрипционных факторов, участвующих в энергетическом гомеостазе организма: рецептора – α , активируемого пероксисомными пролифераторами (PPAR α) и 5'АМФ-активируемой протеинкиназы, в результате чего наблюдается снижение уровня липидов и степени стеатоза в культуре клеток гепатоцитов мышей с НАЖБП [9]. MiR-7, регулирующая метаболизм жирных кислот посредством PPAR α сигнального пути, обладает липогенным действием [10]. Снижение экспрессии miR-21 в экспериментальной модели НАСГ у животных способствует активации генов ремоделирования тканей и развития фиброза печени: фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1 α) и протеинкиназы семейства MAP3K [11]. Выявлено, что miR-21 обладает профибротическим эффектом, стимулируя SMAD сигнальный каскад трансформирующего фактора роста (TGF β) — ключевого медиатора фиброгенеза и экспрессию молекулы матричной металлопротеиназы-2 (MMP2), обеспечивающей дегградацию молекул межклеточного матрикса и инфильтрацию фибробластов [12]. MiR-122 также участвует в регуляции обмена липидов. В эксперименте на мышах ингибирование экспрессии miR-122 приводило к стимулированию процессов окисления, снижению уровня жирных кислот, а также снижало выраженность стеатоза печени [13].

Коэкспрессия тканевых и циркулирующих микроРНК при НАЖБП. Количество работ, посвященных оценке уровня экспрессии различных микроРНК в биоптатах печени больных НАЖБП, невелико, поскольку они сопряжены с выполнением достаточно травматических инвазивных процедур. В одной из работ, американские ученые с помощью микрочипового анализа идентифицировали 69 из 474 микроРНК, дифференциально выраженных между группами больных с НАСГ ($n=15$) и нормальной гистологией печени ($n=15$). На следующем этапе валидированы несколько микроРНК, ассоциированных по литературным данным с патогенезом НАЖБП: в частности, уровень экспрессии miR-34a был значительно выше, а уровень экспрессии miR-122 ниже в биопсийных материалах печени больных НАСГ ($n=25$, $p<0,05$) [14].

Похожие результаты были получены в работе Pirola C.J. и соавторов: оценка уровня экспрессии miR-122 в биоптатах печени выявила статистически значимое снижение miR-122 в группе больных НАСГ ($n=31$) против здорового контроля ($n=14$) и больных стеатозом ($n=20$). Кроме того, тканевой уровень экспрессии miR-122 отрицательно коррелировал с концентрацией липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) ($r=-0,30$, $p=0,04$), щелочной фосфатазы ($r=-0,42$, $p=0,003$), индексом массы тела (ИМТ) ($r=-0,40$, $p=0,03$) [15].

С целью оценки дифференциальной экспрессии между различными типами биоматериала Н. Miyaaki и соавт. [16] изучали направленность изменения уровня miR-122 в сыворотке крови ($n=52$) и биоптатах печени у больных НАЖБП ($n=67$). Выявлена положительная корреляционная связь между циркулирующими и тканевыми уровнями экспрессии miR-122 ($r=0,461$, $p=0,0005$), а также отмечены статистически значимые различия уровня miR-122 между умеренным (<33% жировой инфильтрации площади печени) и тяжелым стеатозом (>33%) в биоптате печени и сыворотке крови ($p=0,0473$ и $p=0,0491$ соответственно); между низким (F0 или F1) и значимым (> F1) фиброзом ($p=0,0087$ и $p=0,0191$). Таким образом, уровень miR-122 может служить полезным прогностическим маркером фиброза печени у пациентов с НАЖБП.

В ряде работ показано, что НАЖБП повышает риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний независимо от других предикторов и проявлений метаболического синдрома [17]. A. Braga-Boils и соавт. [18] проанализировали тканевой уровень miR-34a и miR-122 в печени больных НАЖБП и риск возникновения внезапной сердечной смерти, связанной с ишемической болезнью сердца (ИБС) ($n=133$) и другой этиологией ($n=106$). Было выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии miR-34a и снижение miR-122 в группе больных с летальным исходом НАЖБП и ИБС против группы сравнения ($p<0,05$), а также отмечена корреляция между уровнем miR-122 и тяжестью НАЖБП в обеих группах больных ($r=-0,489$, $p=0,010$ и $r=-0,439$, $p<0,001$ соответственно). Также, отмечена корреляция между содержанием miR-34a и факторами рисками кардиоваскулярной патологии в группе больных НАЖБП, не связанной с ИБС: С-реактивным белком ($r=0,492$, $p<0,001$), miR-122 с содержанием холестерина ($r=0,458$, $p=0,025$) и соотношением ЛПНП/ЛПВП ($r=0,379$, $p=0,016$).

В целом, полученные данные свидетельствуют о существовании взаимосвязи между развитием и тяжестью данной нозологии и специфичным профилем микроРНК (см. таблицу).

Диагностический потенциал циркулирующих микроРНК при НАЖБП. МикроРНК, присутствующие в биологических жидкостях, известны как «циркулирующие». С целью поиска неинвазивных и малоинвазивных биомаркеров развития и прогрессирования НАЖБП и хронического гепатита С. S. Cermelli и соавт. [19] изучали концентрацию miR-16, miR-21, miR-34a и miR-122 в сыворотке крови больных с НАЖБП ($n=34$) и здоровых добровольцев ($n=19$). Выявлено статистически значимое повышение уровня miR-16, miR-34a, miR-122 у больных с НАЖБП

по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$), в то время как уровень miR-21 был сопоставим в обеих группах. Внутри группы НАЖБП при морфологической оценке степени активности и стадии фиброза отмечено статистически значимое повышение уровня miR-34a, miR-122 у пациентов с НАСГ (5-7) против простого стеатоза (1-4). Кроме того, у пациентов с НАЖБП выявлена положительная корреляция между содержанием miR-122 и холестерином ($r=0,36$), ЛПНП ($r=0,44$). Диагностический потенциал miR-122 в развитии стеатоза оценивали с помощью ROC кривой: AUROC составила 0,927; НАСГ против стеатоза – 0,696.

Японские ученые также выявили дисрегуляцию экспрессии miR-21, miR-34a и miR-122 в сыворотке крови больных НАЖБП ($n=92$), уровни которых были значительно выше по сравнению с контрольной группой ($n=311$) ($p<0,001$). Также была отмечена корреляционная взаимосвязь между сывороточным уровнем miR-122 и степенью стеатоза печени [20].

Противоположные данные получили M. Celikbilek и соавт. [21], в работе которых не было выявлено статистически значимого отличия сывороточных уровней miR-122 и -34a между больными НАЖБП ($n=20$) и добровольцами контрольной группы ($n=20$), в то время как miR-181d, -99a, -197 и -146b были значительно ниже по сравнению с контролем ($p<0,05$).

Y. Tan и соавт. [22] исследовали три независимых когорты пациентов, включающих в себя 465 человек, и идентифицировали панель циркулирующих miR-122, -1290, -27 и -192, ассоциированных с развитием НАЖБП. Панель обладает достаточно высоким диагностическим потенциалом для исключения пациентов с НАЖБП ($n=152$) и здоровых индивидуумов ($n=90$): AUROC составила 0,866 (95% ДИ 0,804-0,907; чувствительность и специфичность составили 85,5% и 73,3% соответственно) по сравнению с расчетным индексом фиброза FIB-4 (AUROC 0,795, 95% ДИ 0,730-0,860; $p<0,001$; 69,9 и 83,7% соответственно) и уровня miR-122 (AUROC 0,729, 95% ДИ 0,693-0,862; $p<0,001$; 93,4 и 46,7%, соответственно).

Другой группой ученых, с помощью микрочипового анализа из 84 микроРНК было выявлено двукратное повышение экспрессии miR-122, miR-192 и других семейств в группах больных пациентов со стеатозом ($n=16$) и НАСГ ($n=16$) и практически здоровых добровольцев ($n=16$). На втором этапе проводили валидацию отобранных микроРНК: отмечено статистически значимое повышение уровня miR-122 и miR-192 в группе больных НАСГ ($n=47$) против здорового контроля ($n=19$; в 7,2 раза); НАСГ против стеатоза ($n=30$, в 3,1 раза). Высокий уровень сывороточной miR-122 – потенциальный биомаркер НАСГ и фиброза печени (AUROC=0,714, 95% ДИ 0,524-0,861, $p<0,05$ и AUROC=0,613, 95% ДИ 0,458-0,753, $p<0,05$, соответственно) [15].

Аналогичные результаты продемонстрированы P.P. Vesker и соавт. [23]. Было выявлено увеличение экспрессии циркулирующих miR-21 и -122, -192 в сыворотке крови больных НАЖБП ($n=137$) по сравнению с контрольной группой ($n=61$). Уровни miR-21, -122 и -192 были статистически значимо выше в группе больных с НАСГ ($n=87$) по сравнению с группами

Диагностические характеристики микроРНК в преваленсе НАЖБП

Болезнь	Микро РНК	Биоматериал	Выявляемые изменения	Характеристики микроРНК в преваленсе НАЖБП	Сравнение с референсными параметрами	Ссылки
НАСГ	микроРНК-34а, -122 и др.	Биоптат печени	↑микроРНК-34а, ↓-122 в НАСГ ($n=25$) против КГ ($n=25$)	нет данных (н/д)	н/д	[14]
НАЖБП/НАСГ	микроРНК-122, -192 и др.	Биоптат печени	↓микроРНК-122, -192 в НАСГ ($n=31$) против КГ ($n=14$) и больных с простым стеатозом ($n=20$)	н/д	Корреляция между уровнями микроРНК-122 и ХС-ЛПНП, щелочной фосфатазы и индексом массы тела (ИМТ) ($r=-0,30$; $-0,42$; $-0,40$ соотв.)	[15]
НАЖБП	микроРНК-122	Биоптат печени	↓микроРНК-122 в НАЖБП с умеренным стеатозом (<33% жировой инфильтрации площади печени) против тяжелого стеатоза (>33%); умеренным (F0 или F1) против значимого (> F1) фиброза в биоптатах печени ($n=67$)	н/д	н/д	[16]
НАЖБП/НАСГ/ИБС	микроРНК-34а, -122 и др.	Биоптат печени	↑микроРНК-34а, ↓-122 в группе больных с летальным исходом НАЖБП с ИБС ($n=133$) против НАСГ без ИБС ($n=106$)	н/д	Корреляция между уровнем микроРНК-122 и тяжестью НАЖБП в обеих группах больных ($r=-0,489$ и $r=-0,439$ соотв.); между микроРНК-34а и С-реактивным белком, микроРНК-122 с содержанием холестерина и соотношением ЛПНП/ЛПВП ($r=0,492$; $0,458$; $0,379$ соотв.)	[18]
НАЖБП/НАСГ	микроРНК-16, -21, -34а, -122	Сыворотка	↑микроРНК-16, -34а, -122 в НАЖБП ($n=34$) против КГ ($n=19$); ↑микроРНК-34а, -122 в НАСГ (5-7 баллов) против простого стеатоза (1-4 баллов) внутри группы НАЖБП по морфологической оценке степени активности и стадии фиброза, предложенной Brant E.M.	Высокий уровень микроРНК-122 сопряжен с развитием стеатоза: AUC 0,927 (стеатоз против КГ); AUC 0,696 (НАСГ против стеатоза)	Корреляция между уровнями микроРНК-122 и общим холестерином, ХС-ЛПНП ($r=0,36$, $r=0,44$ соотв.)	[19]
НАЖБП	микроРНК-21, -34а, -122 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-21, -34а, -122 в НАЖБП ($n=92$) против КГ ($n=311$)	н/д	н/д	[20]
НАЖБП/НАСГ	микроРНК-34а, -122 и др.	Сыворотка	Уровни микроРНК-34а и -122 сопоставимы в НАЖБП ($n=20$) и КГ ($n=20$)	н/д	н/д	[21]
НАЖБП	микроРНК-122 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-122, -1290, -27 и -192 в НАЖБП ($n=152$) против КГ ($n=90$)	Панель микроРНК сопряжена с НАЖБП: AUC 0,866 (95% ДИ 0,804-0,907; чувствительность и специфичность составили 85,5% и 73,3% соотв.), для микроРНК-122 AUC составила 0,729 (95% ДИ 0,693-0,862; $p<0,001$; 93,4% и 46,7%, соотв.)	н/д	[22]
НАЖБП/НАСГ	микроРНК-122, -192 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-122, -192 в НАСГ ($n=47$) против КГ ($n=19$) и больных с простым стеатозом ($n=30$)	Высокий уровень микроРНК-122 сопряжен с НАСГ и фиброзом печени (AUROC=0,714, 95% ДИ 0,524-0,861, $p<0,05$ и AUROC=0,613, 95% ДИ 0,458-0,753, $p<0,05$ соотв.)	Положительная корреляция между уровнями микроРНК-122, -192 и активностью АЛТ, АСТ, Гамма-ГТ, концентрацией триглицеридов, цитокератином-18	[15]
НАЖБП	микроРНК-122	Сыворотка	↓микроРНК-122 в НАЖБП с умеренным стеатозом (<33% жировой инфильтрации площади печени) против тяжелого стеатоза (>33%); умеренным (F0 или F1) против значимого (> F1) фиброза в сыворотке крови ($n=52$)	н/д	н/д	[16]

Продолжение таблицы см. на следующей стр.

Диагностические характеристики микроРНК в преваленте НАЖБП (продолжение)

НАЖБП/ НАСГ	микроРНК-21, -122, -192 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-21, -122, -192 в НАСГ ($n=87$) против КГ ($n=61$) и больных с простым стеатозом ($n=50$)	Панель микроРНК + АЛТ + цитокератин-18 сопряжены с НАСГ: AUROC составила 0,83 (95% ДИ 0,754-0,908, $p<0,001$) (НАСГ против простого стеатоза)	Корреляция между уровнями микроРНК-122 и -192 и активностью АЛТ ($r=0,53$ и $r=0,45$), цитокератина-18 ($r=0,48$ и $r=0,36$ соотв.)	[23]
НАЖБП	микроРНК-103	Сыворотка	↑микроРНК-103 в НАЖБП ($n=50$) против КГ ($n=30$)	Повышенный уровень miR-103 является фактором развития НАЖБП: ОШ 2,411 (ДИ 95% 1,250-4,652, $p=0,009$)	Корреляция между уровнями микроРНК-103 и индексом инсулинорезистентности (НОМА-IR) ($r=0,881$), триглицеридами ($r=0,774$) и ИМТ ($r=0,878$)	[24]
НАЖБП	микроРНК-21, -34а, -122 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-34а, -122 в НАЖБП ($n=28$) против КГ ($n=36$), уровень микроРНК-21 сопоставим в обеих группах	Высокие уровни микроРНК-34а и 122 сопряжены с НАЖБП: AUROC=0,781 (95% ДИ 0,663-0,899, $p=0,001$) и 0,858 (95% ДИ 0,769-0,947, $p=0,001$) соотв.	Корреляция между уровнями микроРНК-34а и ЛПНП ($r=0,44$), триглицеридов ($r=0,43$). Корреляции исследуемых микроРНК с морфологическими признаками НАЖБП не выявлено	[25]
НАЖБП/ НАСГ/ ГЦК	микроРНК-122	Сыворотка	↑микроРНК-122 в группе больных с НАЖБП без ГЦК против НАЖБП с ГЦК стадий I-II ($p=0,003$), III ($p=0,001$), однако уровни сопоставимы на стадиях 0 и IV	н/д	Корреляции между содержанием miR-122 и концентрациями АСТ, АЛТ, Гамма-ГТ, ферритина и ИМТ ($r=0,566$, $r=0,632$, $r=0,282$, $r=0,278$, $r=0,239$ соотв.)	[26]
НАЖБП	микроРНК-7, -103, -145 и др.	Плазма	↓микроРНК-145 в НАЖБП с ожирением ($n=20$, ИМТ>30) против без ожирения ($n=24$, ИМТ<30)	н/д	Положительная корреляция между уровнем микроРНК-103 и концентрациями холестерина и ЛПНП, для микроРНК-7 - отрицательная	[27]
НАЖБП/ НАСГ/ ХГВ	микроРНК-16, -21, 34а, -122, -192 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-16, -21, 34а, -122, -192 в группах больных с НАЖБП ($n=48$) и ХГВ ($n=26$) против КГ ($n=37$). Внутри НАЖБП: ↑микроРНК-34а, -122, -192 в НАСГ ($n=31$) против простого стеатоза ($n=17$)	Высокие уровни микроРНК-34а и -16 сопряжены с развитием НАСГ и фиброза печени: AUROC 0,811 (95% ДИ 0,670-0,953, $p<0,05$), чувствительность и специфичность составили 70,4 и 57,9% соотв. и 0,716 (95% ДИ 0,551-0,882, $p<0,05$) соотв.	Корреляции между уровнями микроРНК-34а и -122 со степенью стеатоза ($r=0,302$ и 0,470); воспалительной активностью ($r=0,445$, и 0,517) микроРНК-122 с баллирующими гепатоцитами ($r=0,447$); лобулярным воспалением ($r=0,552$); между уровнем микроРНК-16 и стадией фиброза печени ($r=0,350$)	[28]
НАЖБП	микроРНК-21, -34а, -103, -122 и др.	Сыворотка	↑микроРНК-21 и -122 в группе детей с пубертатным ожирением и НАЖБП ($n=20$) против КГ ($n=10$)	Наибольшая диагностическая ценность в развитии НАЖБП выявлена для микроРНК-122 (AUROC 0,983)	Корреляция между содержанием микроРНК-21 и -103а с ИМТ ($r=0,40$ и $r=0,44$); микроРНК-34а с АСТ ($r=0,45$); микроРНК-122 с АЛТ и АСТ ($r=0,60$ и $r=0,50$ соотв.)	[29]
НАЖБП	микроРНК-122	Сыворотка	↑микроРНК-122 в НАЖБП у детей препубертатного возраста с ожирением (немецкая популяция, $n=71$ и итальянская популяция, $n=45$) против КГ (словенская популяция, $n=31$)	Высокий уровень miR-122 ассоциирован с НАЖБП: для немцев площадь под кривой в ROC-анализе составила 0,77, для итальянцев – 0,54	Корреляция уровня miR-122 с концентрациями АЛТ, АСТ, ГГТ и цитокератина СК-18	[30]

стеатоза ($n=50$) и здорового контроля (все $p<0,05$); в группе стеатоза против контрольной группы – только для miR-122 ($p<0,05$). Выявлена ассоциативная взаимосвязь между уровнями miR-122 и miR-192 с активностью АЛТ ($r=0,53$ и $r=0,45$, все $p<0,0001$), с содержанием в сыворотке фрагментов белка-филамента цитокератина-18 (СК18-Asp396) ($r=0,48$ и $r=0,36$, все $p<0,0001$), образующихся при его расщеплении активированными каспазами из гепатоцитов при апоптозе.

Диагностический потенциал комбинации исследуемых показателей при развитии НАСГ (против стеатоза) оценивали с помощью ROC кривой: AUROC составила 0,83 (95% ДИ 0,754-0,908, $p<0,001$).

Патогенез НАЖБП тесно связан с синдромом инсулинорезистентности (ИР), вследствие которого в печени накапливаются триглицериды и формируется жировой гепатоз — первый этап или «толчок» заболевания. Q. Xu и соавт. [24] изучали концентрации miR-

103 и биомаркеров липидного и углеводного обмена. Выявлено статистически значимое повышение уровня miR-103 в группе больных НАЖБП ($n=50$) по сравнению с добровольцами контрольной группы ($n=30$). Отмечена положительная корреляция между уровнями miR-103 и индексом инсулинорезистентности (НОМА-IR) ($r=0,881$), триглицеридами ($r=0,774$) и ИМТ ($r=0,878$). Повышенный уровень miR-103 является фактором развития НАЖБП: ОШ 2,411 (ДИ 95% 1,250-4,652, $p=0,009$).

В работе N.C. Salvoza и соавт. [25] отмечено статистически значимое увеличение циркулирующих miR-34a и miR-122 в сыворотке больных НАЖБП ($n=28$) по сравнению с контрольной группой ($n=36$), в то время как уровень miR-21 был сопоставим в обеих группах. Выявлена положительная корреляция между концентрациями miR-34a и ЛПНП ($r=0,44$), триглицеридов ($r=0,43$). Однако не выявлено корреляции исследуемых микроРНК с морфологическими признаками НАЖБП. Высокие уровни сывороточных miR-34a (AUROC=0,781, 95% ДИ 0,663-0,899, $p=0,001$) и miR-122 (AUROC=0,858, 95% ДИ 0,769-0,947, $p=0,001$) – потенциальные биомаркеры НАЖБП.

В работе N. Akuta и соавт. [26] изучалась диагностическая роль miR-122 в развитии НАЖБП и ГЦК. Ученые изучали уровень экспрессии miR-122 в сыворотке крови 305 больных НАЖБП ($n=278$) и ГЦК ($n=27$). Было выявлено статистически значимое различие уровня miR-122 среди групп по гистологической классификации НАЖБП: степени стеатоза (вовлечено 5-33%/ >33-66, >66% гепатоцитов, все $p<0,001$); баллонирования гепатоцитов (баллонизирующих клеток нет/ мало/ выраженное баллонирование, все $p<0,001$); лобулярного воспаления (очагов воспаления нет/ <2 / 2-4/ >4 очагов в поле зрения ($\times 200$), все $p<0,001$); стадиям фиброза (0/ 1/ 2/ 3/ 4, все $p<0,001$). Выявлены корреляции между содержанием miR-122 с концентрациями АСТ, АЛТ, γ -ГТ, ферритина и ИМТ ($r=0,566$, $r=0,632$, $r=0,282$, $r=0,278$, $r=0,239$, все $p<0,001$ соответственно). Уровень miR-122 статистически значимо выше в группе больных с НАЖБП без ГЦК по сравнению с НАЖБП с ГЦК стадий I-II ($p=0,003$), III ($p=0,001$), однако были сопоставимы на стадиях 0 и IV.

R. Mehta и соавт. [27] анализировали экспрессию циркулирующих микроРНК больных НАЖБП с ожирением ($n=20$, ИМТ>30) и без него ($n=24$, ИМТ<30). Было выявлено значительное снижение уровня экспрессии miR-145 и других типов в плазме больных с ожирением ($p<0,05$). Корреляционный анализ выявил положительную связь между уровнем miR-103 и концентрациями холестерина и ЛПНП, в то время как для miR-7 выявлена отрицательная корреляция с теми же параметрами.

В работе X.L Liu [28] изучали дифференциальную экспрессию уровня miR-16, -21, -34a, -122, -192 и др. при НАЖБП в китайской популяции. Выявлена значительная экспрессия miR-16, -21, -34a, -122 и -192 в группе больных с хроническим гепатитом В (ХГВ) ($n=26$) по сравнению с НАЖБП ($n=48$) и группой здоровых добровольцев ($n=37$). Только уровень miR-34a был дифференциально экспрессирован между группами НАЖБП и ХГВ (в 2 раза выше). Внутри группы

НАЖБП отмечено изменение уровня не только между НАЖБП и контрольной группами, но также между НАСГ (31) и НАЖБП ($n=17$) для miR-34a, -122 и -192 (все $p<0,05$). Кроме того, выявлены корреляционные взаимосвязи miR-34a и miR-122 со степенью стеатоза ($r=0,302$ и $0,470$, $p<0,05$); воспалительной активностью ($r=0,445$, и $0,517$, $p<0,05$) miR-122 с баллонизирующими гепатоцитами ($r=0,447$, $p<0,01$); лобулярным воспалением ($r=0,552$, $p<0,01$); уровня miR-16 – с стадией фиброза ($r=0,350$, $p<0,05$). Высокий уровень miR-34a ассоциирован с НАЖБП (против контрольной группы): AUROC 0,811 (95% ДИ 0,670-0,953, $p<0,05$), чувствительность и специфичность составили 70,4 и 57,9% соответственно и превосходит диагностическую ценность активности АЛТ, СК-18, шкал оценки FIB-4 и APRI. Высокий уровень miR-16 – биомаркер фиброза печени: AUROC 0,716 (95% ДИ 0,551-0,882, $p<0,05$).

M.D. Thompson и соавт. [29] изучали уровни экспрессии микроРНК у детей с пубертатным ожирением и НАЖБП ($n=20$, средний возраст составил $13,2\pm 3,1$) по сравнению с контрольной группой ($n=10$, средний возраст составил $13,8\pm 2,1$). Для анализа были выбраны 20 циркулирующих микроРНК, дифференциально экспрессирующихся у взрослых людей при НАЖБП. Уровни 16 из 20 микроРНК (miR-21, -34a, -103a, -122 и др.) показали двукратное изменение по сравнению с контрольной группой, наиболее значительное из которых отмечено miR-122. Наибольшая диагностическая ценность в развитии НАЖБП выявлена для miR-122 (AUROC 0,983). Также отмечена корреляция между содержанием miR-21 и -103a с ИМТ ($r=0,40$ и $r=0,44$); miR-34a с АСТ ($r=0,45$, $p=0,047$); miR-122 с АЛТ и АСТ ($r=0,60$ и $r=0,50$; $r=0,006$ и $r=0,02$ соответственно).

В недавнем многоцентровом исследовании было показано, что циркулирующая miR-122 была статистически значимо повышена в двух когортах пациентов с НАЖБП у детей препубертатного возраста с ожирением (немецкая популяция, $n=71$ и итальянская популяция, $n=45$) по сравнению с контрольной группой (словенская популяция, $n=31$). Также выявлена положительная корреляция сывороточного уровня miR-122 с концентрациями АЛТ, АСТ, ГГТ и цитокина СК18 в группах с НАЖБП. Высокий уровень miR-122 был ассоциирован с НАЖБП (против контрольной группы): для немецкой популяции площадь под кривой в ROC-анализе составила 0,77, для итальянской – 0,54 [30].

Заключение. Прогноз и лечение хронических заболеваний печени в значительной степени зависят от выраженности гистологических изменений. Хотя биопсия печени остается эталонным методом для постановки диагноза, её ограничения (инвазивность, субъективизм патоморфологической оценки и зависимость от точности взятия биоптата) снижают частоту ее применения в рутинной клинической практике и стимулируют поиск новых неинвазивных и малоинвазивных подходов. При этом основное внимание уделяется вопросу, могут ли данные методы не только обнаружить клинически значимые формы НАЖБП, но и коррелировать с морфологической оценкой степени активности и стадии стеатоза и фиброза. Накопленные данные свидетельствуют о том, что микроРНК являются важными регуляторами

липидного обмена. В то же время, так как каждая микроРНК имеет несколько мишеней, и один ген может регулироваться несколькими микроРНК, преждевременно рассматривать любую отдельную микроРНК как самостоятельный маркер исключительно для жировых заболеваний печени. Тем не менее, с увеличением числа открытий новых микроРНК, а также установления функции уже известных специфических микроРНК в патогенезе заболевания, растет и понимание возможностей использования конкретных микроРНК в клинической практике. Таким образом, в будущем определение профилей экспрессируемых микроРНК, вместе с биохимическими и другими лабораторными показателями, может лечь в основу интегральной шкалы оценки стадии течения заболевания печени.

В последние годы все большее количество микроРНК было предложено в качестве потенциальных биомаркеров НАЖБП. Наибольшая диагностическая и прогностическая ценность была продемонстрирована для miR-21, miR-34a, miR-103, miR-122, miR-145, miR-192 и других семейств.

Важно отметить, что в большинстве работ пациентов с НАЖБП сравнивали с контрольными группами здоровых лиц. Противоречивые результаты некоторых исследований подтверждают необходимость дальнейшего изучения патогенетического механизма развития заболевания и вклад конкретных микроРНК. В то же время, уже сейчас можно утверждать, что некоторые микроРНК являются крайне перспективным малоинвазивным диагностическим инструментом.

На сегодняшний день количественное определение различных микроРНК не может быть использовано в качестве основного, неинвазивного диагностического теста для диагностики неалкогольной жировой болезни печени. Необходимо проведение масштабных клинических исследований для определения пороговых значений и соответствующих диагностических характеристик, циркулирующих микроРНК в качестве биомаркера НАЖБП. Кроме того, должна быть проведена работа по созданию референсного метода для выявления микроРНК, который бы позволил стандартизировать исследования для оценки базовых значений этих биомаркеров в различных группах населения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100»

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Demir M., Lang S., Steffen H.M. Nonalcoholic fatty liver disease: Current status and future directions. *J. Dig. Dis.* 2015;16 (10): 541-57.
- Lewis J., Mohanty S. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Review and Update. *Dig. Dis. Sci.* 2010; 55: 560-78.
- Sumida Y., Nakajima A., Itoh Y. Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *WJG.* 2014; 20(2): 475-85.
- Castera L., Pinzani M. Non-invasive assessment of liver fibrosis: are we ready? *Lancet.* 2010 Apr 24;375(9724):1419-20. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology.* 2016; 64:1388-1402.
- EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of Hepatology.* 2015; 63(1): 237-64.
- Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004; 116(2): 281-97.
- Lakner A.M, Bonkovsky HL, Schrum LW. microRNAs: fad or future of liver disease. *WJG.* 2011;17: 2536-42.
- Castro R.E., Ferreira D.M., Afonso M.B., Borralho P.M., Machado M.V., Cortez-Pinto H., Rodrigues C.M. Mir-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatol.* 2013;58:119-25.
- Ding J., Li M., Wan X., Jin X., Chen S., Yu C., Li Y. Effect of mir-34a in regulating steatosis by targeting PPAR α expression in nonalcoholic fatty liver disease. *Sci. Rep.* 2015; 5.
- Singaravelu R., Quan C.M., Powdrill M.H., Shaw T.A., Srinivasan P., Lyn R.K. et al. MicroRNA-7 mediates cross-talk between metabolic signaling pathways in the liver. *Sci Rep.* 2018; 8: 361.
- Csak T., Bala S., Lippai D., Satishchandran A., Catalano D., Kodys K. et al. MicroRNA-122 regulates hypoxia-inducible factor-1 and vimentin in hepatocytes and correlates with fibrosis in diet-induced steatohepatitis. *Liver Int.* 2015; 35: 532-41.
- Marquez R. T., Bandyopadhyay S., Wendlandt E. B. et al. Correlation between microRNA expression levels and clinical parameters associated with chronic hepatitis C viral infection in humans. *Lab. Invest.* 2010; 90: 1727-36.
- Esau C., Davis S., Murray S.F., et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metab.* 2006; 3: 87-98.
- Cheung O., Puri P., Eicken C., Contos M.J., Mirshahi F., Maher J.W. et al. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with altered hepatic MicroRNA expression. *Hepatology.* 2008; 48:1810-20.
- Pirola C.J., Gianotti T.F., Castaño G.O., Mallardi P., San Martino J., Ledesma M.M.G.L. et al. Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis. *Gut.* 2015; 64(5): 800-12.
- Miyaaki H., Ichikawa T., Kamo Y., Taura N., Honda T., Shibata H., Mizuno M., Fornari F., Gramantieri L., Bolondi L., Nakao K. Significance of serum and hepatic microRNA-122 levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2014; 34(7): 2-3.
- Haring R., Wallaschofski H., Nauck M., et al. *Hepatology.* 2009; 50: 1403-11.
- Braza-Boils A., Mari-Alexandre J., Molina P., Arnau M.A., Barceló-Molina M., Domingo D. et al. Deregulated hepatic microRNAs underlie the association between non-alcoholic fatty liver disease and coronary artery disease. *Liver Int.* 2016; 36(8): 1221-9.
- Cermelli S., Ruggieri A., Marrero J.A., Ioannou G.N., Beretta L. Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2011; 6(8): 5-7.
- Yamada H., Suzuki K., Ichino N., Ando Y., Sawada A., Osakabe K. et al. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver. *Clin. Chim. Acta.* 2013; 424: 99-103.
- Celikbilek M., Baskol M., Taheri S., Deniz K., Dogan S., Zararsiz G. et al. Circulating microRNAs in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *W.J. H.* 2014; 6(8): 613-20.
- Tan Y., Ge G., Pan T., Wen D., Gan J. A pilot study of serum microRNAs panel as potential biomarkers for diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS One.* 2014; 9(8): 4-10.
- Becker P.P., Rau M., Schmitt J., Malsch C., Hammer C., Bantel H., Müllhaupt B, Geier A. Performance of Serum microRNAs -122, -192 and -21 as Biomarkers in Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis. *PLoS One.* 2015; 10(11): 5-12.
- Xu Q., Li Y., Shang YF, Wang HL, Yao MX. miRNA-103: molecular link between insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.* 2015;21(2): 511-6.
- Salvoza N.C., Klinzing D.C., Gopez-Cervantes J., Baclig M.O.. Association of Circulating Serum miR-34a and miR-122 with Dyslipidemia among Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *PLoS One.* 2016; 11(4): 4-9.
- Akuta N., Kawamura Y., Suzuki F., Saitoh S., Arase Y., Kunimoto H. et al. Impact of circulating miR-122 for histological features and hepatocellular carcinoma of nonalcoholic fatty liver disease in Japan. *Hepatol. Int.* 2016; 10(4): 647-56.
- Mehta R., Otgonsuren M., Younoszai Z., Allawi H, Raybuck B., Younoszai Z. Circulating miRNA in patients with non-alcoholic fatty liver disease and coronary artery disease. *BMJ Open Gastroenterol.* 2016; 3(1): 2-6.
- Liu X.L., Pan Q., Zhang R.N., Shen F, Yan S.Y., Sun C. et al. Disease-specific miR-34a as diagnostic marker of non-alcoholic steatohepatitis in a Chinese population. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(44): 9844-52.
- Thompson M.D., Cismowski M.J., Serpico M., Pusateri A., Brigstock D.R. Elevation of circulating microRNA levels in obese children compared to healthy controls. *Clin. Obes.* 2017; 7(4): 216-21.
- Brandt S., Roos J., Inzaghi E., Kotnik P., Kovac J., Battelino T. et al. Circulating levels of miR-122 and nonalcoholic fatty liver disease in pre-pubertal obese children. *Pediatr. Obes.* 2018; 13(3): 75-82.

Поступила 01.09.19

Принята к печати 18.10.19