

**КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФИБРОГЕНЕЗА ПЕЧЕНИ****Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец***Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Беларусь*

*Фиброз – ключевой патологический процесс в развитии всех хронических заболеваний печени. Исследования последних лет показали, что в развитии фиброгенеза печени задействованы многие типы клеток. Трансдифференцировка (активация) звездчатых клеток является центральным звеном фиброгенеза и представляет собой сложный, до конца не изученный процесс. Доклинические исследования выявили ряд мишеней для антифиброзных препаратов, но существует значительная задержка их применения в клинике. Препятствием при разработке новых препаратов является отсутствие чувствительных и специфических биомаркеров, необходимых для оценки лечения фиброза. Этим обусловлено пристальное внимание к клеточным и молекулярно-генетическим механизмам развития фиброза, которые на сегодняшний день до конца не известны ввиду сложной регуляции экспрессии сотен генов. Определение взаимодействия разных типов клеток в печени, выявление эффектов цитокинов, хемокинов и факторов роста на эти клетки, характеристика регуляторных механизмов, которые контролируют экспрессию генов, откроют новые терапевтические мишени в лечении фиброза печени.*

**Ключевые слова:** печень, фиброгенез, клеточно-молекулярные механизмы, звездчатая клетка.

**CELLULAR AND MOLECULAR MECHANISMS OF LIVER FIBROGENESIS****E. I. Lebedeva, O. D. Myadelets***Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus*

*Fibrosis is a key pathological process in the development of all chronic liver diseases. Recent studies have shown that many types of cells are involved in the development of liver fibrogenesis. Transdifferentiation (activation) of stellate cells is the central component of fibrogenesis representing a complex process that hasn't been completely clarified yet. Preclinical studies have identified a number of targets for antifibrotic drugs, but there is a significant delay in their use in clinical practice. An obstacle to the development of new drugs is the lack of sensitive and specific biomarkers necessary to evaluate the treatment of fibrosis. This accounts for close attention paid to cellular and molecular-genetic mechanisms of fibrosis development, that are little understood due to complex regulation of expression of hundreds of genes. The detection of interaction of different types of cells in the liver, identification of the effects of cytokines, chemokines and growth factors on these cells, the characteristics of the regulatory mechanisms that control gene expression, will reveal new therapeutic targets in the treatment of liver fibrosis.*

**Keywords:** liver, fibrogenesis, cellular and molecular mechanisms, stellate cell.

**Автор, ответственный за переписку:**

Лебедева Елена Ивановна; канд. биол. наук, доцент;  
Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;  
e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

**Corresponding author:**

Lebedeva Elena; PhD (Biology), Associate Professor; Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;  
e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

**Для цитирования:**

Лебедева, Е. И. Клеточно-молекулярные механизмы фиброгенеза печени / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Гепатология и гастроэнтерология. 2019. Т. 3, № 2. С. 119-126. <https://dx.doi.org/10.25298/2616-5546-2019-3-2-119-126>

**For citation:**

Lebedeva EI, Myadelets OD. Cellular and molecular mechanisms of liver fibrogenesis. *Hepatology and Gastroenterology*. 2019;3(2):119-126. <https://dx.doi.org/10.25298/2616-5546-2019-3-2-119-126>

**Введение**

Прогрессирование и разрешение фиброза представляет собой сложный процесс с участием паренхиматозных, непаренхиматозных клеток печени и инфильтрирующих орган клеток. Хроническая гибель гепатоцитов в результате апоптоза, некроза или некроптоза вызывает активацию воспалительных и профиброгенных путей, которые запускают процессы фиброгенеза. Понимание сложной сети, лежащей в основе фиброгенеза печени, позволило выявить большее количество антифиброзных мишеней. Эффективные и безопасные антифибротические

препараты в настоящее время все еще не разработаны [1, 2].

**Цель** – обобщение имеющихся научных данных в области изучения клеточно-молекулярных механизмов фиброгенеза печени, определение проблем и перспектив использования достижений в клинической практике.

**Клеточные источники матрикс-продуцирующих миофибробластов**

Источник фиброгенных клеток печени долгое время оставался предметом споров среди ученых. Результаты последних исследований

показали, что накопление внеклеточного матрикса во время хронического повреждения печени обусловлено гетерогенной популяцией миофибробластов. Они мигрируют и накапливаются в местах поражения печени в ответ на паракринные/аутокринные эффекты широкого спектра: факторов роста, цитокинов, медиаторов, продуцируемых поврежденной печенью. Миофибробласты печени происходят в основном из резидентных мезенхимальных клеток (печеночных звездчатых клеток и портальных фибробластов). Вклад внепеченочных предшественников в фиброгенную популяцию до конца не изучен и остается спорным [3, 4].

Звездчатая клетка печени (жиронакапливающая клетка, перисинусоидная клетка, липоцит, клетка Ито, перицит, стеллатная клетка) привлекает физиологов, патологоанатомов и гепатологов на протяжении более 130 лет. Среди ученых существовала парадигма, что повреждения печени вызывает активацию и дифференцировку неподвижных звездчатых клеток в пролиферативные, сократительные и фиброгенные миофибробласты. Эта парадигма положила начало эпохе понимания клеточных основ фиброгенеза печени. Звездчатые клетки печени принято считать основным источником внеклеточного матрикса во время фиброза печени. Они являются первой идентифицированной популяцией фиброгенных клеток [5, 6].

В норме звездчатые клетки располагаются в субэндотелиальном пространстве и составляют приблизительно одну треть непаренхиматозных клеток и около 15% от общего количества резидентных клеток печени. Одна клетка окружает более двух близлежащих синусоидов и тесно контактирует с соседними клетками. Кроме того, звездчатые клетки расположены рядом с нервными окончаниями, и это подтверждает их нейрогуморальную регуляцию. Уникальной характерной особенностью звездчатых клеток является накопление в цитоплазме капель витамина А, которые постепенно исчезают в процессе трансдифференцировки в миофибробласты. Установлено, что капли витамина А имеют неоднородную структуру. Описаны два их типа: капли I типа связаны с плазмолеммой, имеют непостоянный диаметр, обычно меньше 2 мкм. Капли II типа не связаны с плазмолеммой, их диаметр до 8 мкм. Связь между каплями I и II типов и их функциональными различиями не ясна [5, 7, 8].

В условиях нормы звездчатые клетки проявляют «спокойный» фенотип. При остром или хроническом повреждении печени сложная сеть аутокринных/паракринных фиброгенных сигналов способствует трансдифференцировке молчащих звездчатых клеток в миофибробластический фенотип. Исследования на животных с использованием разных экспериментальных мо-

делей показали, что от 82 до 96% миофибробластов происходят из звездчатых клеток. Следует отметить, что результаты получены на экспериментальных моделях и должны быть подтверждены у пациентов [9, 10, 11, 12].

Источником миофибробластов могут быть фибробласты портальных трактов. Они представляют собой веретенообразные клетки мезенхимального происхождения. Показано, что при холестатических поражениях печени в первую очередь портальные фибробласты подвергаются миофибробластической дифференцировке. Активированные звездчатые клетки и портальные миофибробласты экспрессируют некоторые общие маркеры. Изучение профиля генов показало, что по специфическим маркерам можно дифференцировать две клеточные популяции. Интерлейкин-6, фибулин-2, белок Thy-1, эластин и кофилин характерны для портальных миофибробластов. Десмин, протеаза P100, цитоглобин,  $\alpha$ -2 макроглобин и синаптофизин экспрессируются в активированных звездчатых клетках. Оба типа клеток демонстрируют сходные свойства, характерные для фиброгенных клеток. Портальные фибробласты более устойчивы к апоптозу и обладают более высокой пролиферативной способностью, чем звездчатые клетки [11, 13, 14, 15]. Предположительно, портальные фибробласты способствуют образованию фиброзных перегородок из портальных трактов и при других хронических заболеваниях печени.

В ряде исследований показано, что при повреждении печени циркулирующие фиброциты пролиферируют и мигрируют в поврежденный орган, выделяя факторы роста, которые способствуют отложению внеклеточного матрикса. Предшественниками циркулирующих фиброцитов являются гемопоэтические стволовые клетки. Вероятно, степень дифференцировки циркулирующих фиброцитов в миофибробласты зависит от типа повреждения и органа. Повреждение печени вызывает миграцию фиброцитов в лимфоидные органы [16, 17]. Это позволяет предположить, что функция данных клеток не может быть ограничена только отложением внеклеточного матрикса.

Миофибробласты печени могут происходить из гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга. В настоящее время вклад данных клеток в отложение внеклеточного матрикса в ходе фиброза печени до конца не изучен [9, 17, 18].

Исследования гепатоцитов и холангиоцитов в культуре выявили, что данные клетки могут подвергаться эпителиально-мезенхимальному переходу и приобретать фенотип миофибробластов [9]. Более поздние сообщения опровергают трансдифференцировку данных клеток. Анало-

гичные выводы были сделаны при исследовании легких и почек при фиброзе [19, 20]. Противоречивые данные относительно эпителиально-мезенхимального перехода указывает на необходимость проведения дальнейших исследований и стандартизации методов исследований.

### **Ключевые механизмы активации звездчатых клеток**

Прогрессирование и разрешение фиброза представляет собой сложный процесс с участием паренхиматозных и непаренхиматозных клеток печени, а также инфильтрирующих клеток. Продолжающаяся гибель гепатоцитов (апоптоз, некроз, некроптоз) является стимулом фиброгенеза. Апоптотические клетки обычно удаляются макрофагами. Экспериментальные исследования показали, что активированные печеночные миофибробласты могут вести себя как фагоциты. Поглощение апоптотических телец гепатоцитов миофибробластами запускает их фиброгенную активацию посредством NOX2 (NADPH-оксидазы, клеточный мультимолекулярный ферментный комплекс) и JAK/STAT и PI3K/Akt сигнальных путей [9, 21, 22, 23].

Фиброгенез печени связан с активацией синусоидальных эндотелиальных клеток. Активированные эндотелиоциты вносят вклад в активацию звездчатых клеток благодаря своей способности секретировать фибронектин, TGF- $\beta$ 1 (трансформирующий ростовой фактор  $\beta$ 1) и PDGF-BB (фактор роста тромбоцитов-BB). Миофибробласты активируют эндотелиальные клетки посредством секреции ангиогенных факторов, таких как VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), FGF (фактор роста фибробластов) и ангиопоэтин-1. Экспериментальные исследования показывают, что антиангиогенная терапия может способствовать регрессии фиброза печени. В других исследованиях установлено, что отсутствие специфичности влияет на пролиферацию эндотелия более крупных сосудов и может усугубить интерстициальный фиброз почек [24, 25].

Патологической особенностью повреждения печени (преимущественно билиарного фиброза) является протоковая реакция. Это процесс пролиферации клеток (активированных холангиоцитов и/или овальных клеток и/или билиарных предшественников) которые имеют тенденцию образовывать нефункциональные желчные протоки. На экспериментальных моделях повреждения печени и пациентах показана корреляция протоковой реакции с прогрессированием фиброза печени. В местах протоковой реакции выявлены клетки-предшественники, активированные звездчатые клетки и внеклеточный матрикс. Предполагают, что клетки-предшественники запускают процесс формирования протоковой пластинки с последующим формированием прото-

ков и секретируют факторы, которые привлекают и активируют звездчатые клетки/миофибробласты. Временные и функциональные взаимосвязи между элементами протоковой реакции остаются неопределенными и неясными [26, 27].

В последнее время возрастает интерес к роли иммунных клеток и особенно подмножеств макрофагов в регуляции прогрессирования и регрессии фиброза. По данным современной литературы, клетки Купфера (резидентные макрофаги) обладают свойством пластичности, изменяя свой фенотип и функции в ответ на сигналы микроокружения. Пластичность позволяет клеткам Купфера приобретать широкий спектр функций от провоспалительных (M1) до противовоспалительных (M2) [28].

M1 фенотип характеризуется повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов, TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухоли- $\alpha$ ), INF- $\gamma$  (интерферон гамма), iNOS (индуцибельная NO-синтетаза), активных форм кислорода и хемокинов. M2 фенотип демонстрирует низкую экспрессию провоспалительных цитокинов, но повышенную экспрессию противовоспалительных медиаторов, TGF- $\beta$ , MMPs -9, -12, -13 (матриксные металлопротеиназы), VEGF, аргиназы-1 и ряда хемокинов. Экспериментальные данные показывают, что у мышей BALB/c, которые имеют доминантные макрофаги типа M2, наблюдается ослабление фиброза печени по сравнению с мышами C57BL/6 (доминантный M1 тип). Другое исследование с использованием мышей BALB/c и C57BL/6 показало, что клетки M2 индуцируют апоптоз клеток M1 через секрецию IL-10 (интерлейкин 10) и регулируют баланс M1/M2, что приводит к защитным эффектам. Это свидетельствует о том, что активация клеток M2 и регуляция баланса M1/M2 может быть потенциальной целью лечения патологий печени [29, 30].

Клетки Купфера не только активируют звездчатые клетки, но также стимулируют приток моноцитов из костного мозга через секрецию CCL2 и CCL5 (цитокины, относятся к группе CC-хемокинов). У животных для характеристики популяций циркулирующих моноцитов и макрофагов используют экспрессию Ly6c. Выявлены два подтипа циркулирующих моноцитов: классические Ly6chi (Ly-6chigh) и неклассические Ly6clo (Ly-6clow). Ly6chi характеризуются как CD11b+CCR2++CX3CR1+iNOS+TNF+CD4- клетки, имеют провоспалительный M1 подобный фенотип. Ly6clo определяются как CD11b+CCR2+CX3CR1++CD206+MMP9+MMP12+ клетки и могут играть противовоспалительную роль (M2 подобный фенотип) [31, 32].

На экспериментальных моделях фиброза, вызванного тетрахлорметаном, показано, что макрофаги Ly6Chi стимулируют прогрессирование фиброза. Предположительно, накопление

в поврежденной печени CCL2 и макрофагов Ly6Chi является центральным механизмом активации и прогрессирования фиброза. Установлено, что воспалительные и профиброгенные макрофаги Ly6Chi могут дифференцироваться в восстановительные Ly6Clo макрофаги, которые характеризуются высокой экспрессией противовоспалительных интерлейкинов и матриксных металлопротеиназ (MMPs-9, MMPs-12, MMPs-13). Пути, лежащие в основе этого переключения, представляют большой интерес и являются терапевтически привлекательными [33, 34].

Важное звено в процессе фиброгенеза – рекрутирование макрофагов, следовательно, это может быть потенциальной терапевтической мишенью. Однако субпопуляции макрофагов у людей четко не охарактеризованы, необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение биологии макрофагов человека.

T-лимфоциты (Th1, Th2, Th17 и Tregs-лимфоциты) являются основными регуляторами иммунного ответа печени. Они также контролируют фиброгенный процесс с положительным или отрицательным исходом в зависимости от их фенотипа [9].

В ряде исследований показано, что высвобождение IFN- $\gamma$  Th1-лимфоцитами снижает фиброгенез печени путем ингибирования каскада трансдукции, вызванного TGF- $\beta$ , проявляя антипролиферативный и апоптотический эффекты для миофибробластов печени. Th2 клетки способствует фиброзу печени через синтез интерлейкина-13 (IL-13) [35].

Th17-лимфоциты индуцируются воспалительной средой и секретируют IL-17 (IL-17A), IL-21 и IL-22. В печени пациентов с хроническим гепатитом B и алкогольной болезнью количество IL-17-позитивных клеток увеличивается и коррелирует с выраженностью фиброза. В разных экспериментальных моделях фиброза печени уровни IL-17 повышены. Мыши с дефицитом IL-17 демонстрируют устойчивость к фиброзу печени. IL-17 воздействует на печеночные миофибробласты, усиливая их провоспалительный и профиброгенный потенциал. IL-17 способствует переключению фенотипа клеток Купфера в направлении поляризации M1. Однако клетки Th17 продуцируют гепатозащитный и антифиброгенный цитокин IL-22 [22].

Роль Tregs-лимфоцитов при фиброзе печени детально не исследована. Предполагают, что Tregs-лимфоциты секретируют профиброгенные медиаторы. Количество Tregs-лимфоцитов увеличивается у мышей после перевязки желчных протоков. В данном исследовании их роль до конца не изучена. В других работах показано, что снижение количества Tregs-лимфоцитов усиливает холестаза, воспаление и фиброз [9, 22, 35].

Специфичные для печени NK-клетки (печеночная натуральная киллерная клетка) представ-

ляют собой лимфоциты с противовирусными и противоопухолевыми свойствами. В моделях фиброза печени у грызунов NK-клетки подавляют фиброз двумя способами: путем апоптоза рано активированных и стареющих звездчатых клеток/миофибробластов и посредством IFN- $\gamma$ . При этом на ранних стадиях активации звездчатые клетки более склонны к гибели, чем покоящиеся или полностью активированные. Выявлено, что IL-15 увеличивает количество NK-клеток, а T-клетки способны снижать их количество [9, 35].

В последнее время привлекает внимание популяция специализированных T-лимфоцитов (NKT-клетки). Установлено, что существует две субпопуляции: NKT-клетки I типа и NKT-клетки II типа. Они экспрессируют маркеры NK-клеток (CD16, CD56) и T-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8). Влияние NKT-клеток на фиброз печени является спорным. Функции данных клеток были исследованы на мышах с дефицитом NKT I и II типов. В зависимости от степени поражения печени описаны как антифиброгенные, так и профиброгенные эффекты [2, 35, 36].

Активные формы кислорода (ROS) обладают способностью активировать звездчатые клетки и стимулировать прогрессирование фиброза. На экспериментальных моделях показано, что при повреждении печени в звездчатых клетках ROS активируют сигнальный каскад транскрипционных факторов семейства NF $\kappa$ B и усиливают экспрессию генов, ассоциированных с фиброзом (COL1A1, COL1A2, MCP1 и TIMP1) [37]. В культуре клеток показано, что цитохром 2E1 (CYP2E1) активирует звездчатые клетки посредством генерации ROS. В присутствии клеток, которые экспрессируют CYP2E1 (клетки E47), выработка коллагена звездчатыми клетками увеличивается. И наоборот, в присутствии антиоксидантов или ингибитора цитохрома CYP2E1 увеличение выработки коллагена блокируется. Это позволяет предположить, что происходящие из CYP2E1 ROS ответственны за увеличение выработки коллагена [9, 38].

ROS представляют гетерогенную группу с широко варьирующей химической реактивностью и биологическими свойствами. Блокада окислительного стресса как терапевтическая мишень все еще находится в стадии изучения. Первые результаты показали, что использование антиоксиданта *mitoquinone* может уменьшить воспаление печени, возможно, за счет индукции антиоксидантного фактора транскрипции Nrf2 [39].

При повреждении печени NADPH-оксидазы гепатоцитов, холангиоцитов и воспалительных клеток могут вносить вклад не только в активацию звездчатых клеток, но также в активацию клеток Купфера и макрофагов. Выявлено, что NADPH-оксидазы NOX2 и NOX1 экспрессируются в звездчатых клетках и их активация приводит к индукции фиброгенных каскадов. В недавних

исследованиях продемонстрирована роль NOX4 в продукции ROS и активации звездчатых клеток. Показано, что ингибирование NOX4 может быть новой многообещающей стратегией для трансляционных исследований при фиброзе печени. Механизм регуляции NADPH-оксидаз до конца не изучен [1, 9, 40].

Хронические заболевания печени связаны с усиленным порталным притоком продуктов кишечной микробиоты (липополисахариды, бактериальная ДНК, пептидогликаны, вирусные и грибковые компоненты, содержащие ДНК хозяина) вследствие повышенной проницаемости кишечника. В нескольких исследованиях сообщалось о положительном влиянии дезактивации кишечника антибиотиками на фиброгенез печени. Это позволяет предположить, что кишечная микробиота усиливает фиброгенез печени. Стимуляция звездчатых клеток бактериальными продуктами посредством Toll-подобных рецепторов (TLR4, TLR9 и TLR2) вызывает провоспалительный ответ. Мыши с нокаутом TLR4, TLR2 и TLR9 защищены от фиброза печени [41, 42].

Методом *in vitro* выявлена высокая активность белка 1 группы с высокой подвижностью (HMGB1) во время фиброза печени. Он обладает синергетическим эффектом с TGF- $\beta$ 1. Возможно, HMGB1 активирует передачу сигналов через TLR4 в звездчатых клетках для усиления ими воспалительного фенотипа. Ингибирование активности передачи сигналов HMGB1 и TLR4 может быть мишенью антифибротической терапии. Данное предположение требует дальнейшего изучения в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [43, 44].

TGF- $\beta$  является наиболее мощным стимулом для синтеза коллагена. Его синтезируют клетки Купфера, макрофаги, звездчатые клетки, синусоидальные эндотелиальные клетки и гепатоциты. TGF- $\beta$  стимулирует синтез коллагена I типа, фибронектина и протеогликана. В условиях нормы он хранится в виде инактивированного белка, но при активации передает сигналы через рецепторы на белки SMAD, которые усиливают транскрипцию генов-мишеней, таких как проколлагены I и III [45].

Недавние исследования показали, что CTGF/CCN2 (CTGF-фактор роста соединительной ткани) является центральным фиброгенным фактором пути TGF $\beta$  и его нокаут подавляет фиброгенез у мышей, индуцированный тетралометаном. В гепатоцитах стимуляция CTGF/CCN2 зависит от TGF- $\beta$ , а в звездчатых клетках данная зависимость отсутствует. Это подчеркивает тот факт, что передача сигналов в звездчатых клетках не всегда является аутокринной. Выявлено, что лептин активирует TGF- $\beta$  и увеличивает число рецепторов к нему у высокодифференцированных клеток. При этом клетки приобретают свойства фибробластов [46]. Терапевтические

стратегии блокирования циркулирующего TGF $\beta$ 1 и его активации, антагонизации его рецепторов оказались сложными из-за неблагоприятных эффектов системного антагонизма TGF $\beta$ . Нацеливание на определенные этапы активации TGF- $\beta$ 1 может быть полезным для уменьшения фиброзного ответа печени [44, 46].

Исследование показало, что дезактивация каннабиноидного рецептора 1 (CB1) ослабляет экспериментальный фиброз печени, но антагонист CB1 имел побочные эффекты в другом исследовании. Специфические каннабиноидные рецепторы (CB1 и CB2) принадлежат к суперсемейству рецепторов, связанных с G-белками. Различия между двумя типами рецепторов определяются последовательностью аминокислот, механизмами передачи сигналов и характером взаимодействия с агонистами и антагонистами. Последовательность аминокислот CB1 и CB2 рецепторов идентична на 48%. Стимуляция рецептора CB1 индуцирует фиброгенез, а стимуляция рецептора CB2 проявляет антифибротический и гепатозащитный эффекты [9, 47].

Исследования последних лет показали, что изменения внутриклеточных микроРНК (microRNA, mi-Rs, miRNA) коррелируют с различными заболеваниями печени. Методом секвенирования нового поколения в активированных звездчатых клетках выявлены профиброгенные сверхэкспрессированные микроРНК (микроРНК-9a-5p, микроРНК-17-5p, микроРНК-21, микроРНК-27, микроРНК-31, микроРНК-33a, микроРНК-34a/c, микроРНК-125, микроРНК-126, микроРНК-130a/b, микроРНК-181b, микроРНК-214-5p, микроРНК-195, микроРНК-199a/b, микроРНК-221, микроРНК-222). Они индуцируют пролиферацию, миграцию клеток и секрецию ими коллагена через разные сигнальные пути. Открыты и антифибротические микроРНК: микроРНК-16, микроРНК-19b, микроРНК-29, микроРНК-30, микроРНК-101, микроРНК-122, микроРНК-133a, микроРНК-144, микроРНК-146a, микроРНК-150, микроРНК-155, микроРНК-192, микроРНК-195, микроРНК-335, микроРНК-454, микроРНК-483 [9, 48].

Наиболее изучено при фиброзе печени семейство микроРНК-29. Установлено, что микроРНК-29b предотвращает фиброгенез печени путем регуляции пролиферации, миграции, апоптоза и трансдифференцировки звездчатых клеток в миофибробласты. Имеются доказательства того, что микроРНК-29 можно использовать в качестве терапевтической мишени для подавления фиброза путем нацеливания на звездчатые клетки. Снижение уровня микроРНК-122 отмечено в активированных звездчатых клетках печени у мышей с фиброзом, индуцированным CCl<sub>4</sub>. Однако роль микроРНК-122 и механизмы, лежащие в основе снижения уровня, до конца не определены [49]. Активация микроРНК-21 в звездчатых клетках мышей способствует фибро-

зу печени. Мишенями микроРНК-21 являются гены, участвующие во взаимодействии таких сигнальных путей, как TGF- $\beta$ /p53 и PI3K/AKT/mTOR. Ключевым механизмом микроРНК-21-опосредованного фиброза печени является подавление Smad7. Установлено, что TGF- $\beta$  и микроРНК-21 функционируют совместно, способствуя трансдифференцировке звездчатых клеток в миофибробластные клетки [50]. МикроРНК-145 ингибирует активацию и пролиферацию звездчатых клеток через Wnt/ $\beta$ -катенин сигнальный путь. Сверхэкспрессия микроРНК-200a ингибирует экспрессию  $\alpha$ -гладкомышечный актин ( $\alpha$ -SMA) и подавляет TGF $\beta$ -индуцированную пролиферацию через SIRT1/Notch1 и NRF2/KEAP1 сигнальные пути [1, 2, 9, 21]. Следует отметить, что большинство исследований по изучению микроРНК проведено методом *in vitro*.

Циркулирующие микроРНК-122, микроРНК-138, микроРНК-143 и микроРНК-185 были оценены как потенциальные неинвазивные биомаркеры активации звездчатых клеток, фиброза печени и прогноза у пациентов с вирусным гепатитом. Роль длинных некодирующих РНК (lncRNAs) менее изучена по сравнению с микроРНК [21, 23].

Внеклеточный матрикс – это динамическая, постоянно меняющаяся структура. Прогрессивное отложение белков приводит к увеличению плотности и жесткости матрикса. Жесткость матрикса – это одна из многих механических сил, ее рассматривают как важный медиатор поведения клеток. Он регулирует передачу сигналов клетками, влияя на рост, выживаемость и подвижность. Проллиферация и дифференцировка клеток возрастают с увеличением жесткости матрикса. Выявлено, что состав матрикса смещается от коллагена IV типа, гепарансульфата-протеогликана и ламинина к фибриллярному коллагену I и III типов. Эти изменения служат механическим стимулом для активации звездчатых клеток [40]. Клетки LX-2, культивируемые на акриламидном геле с давлением 12 кПа (имитация повышенной жесткости ткани в фиброзной печени) демонстрируют высокую экспрессию коллагена I типа [1, 2]. Звездчатые клетки, культивируемые в застывших и размягчающихся с течением времени гидрогелях, выявили динамические транскрипционные изменения во время процесса их активации и регрессии. Эти данные свидетельствуют о том, что жесткость матрикса играет важную роль в фиброгенезе. Lysylloxase-like-2 (LOXL2), экспрессируемый звездчатыми клетками, катализирует сшивание коллагенов и эластинов. В экспериментальных моделях его ингибирование снижает фиброз печени и легких. Внеклеточный матрикс печени служит резервуаром для факторов роста (PDGF, HGF, FGF, EGF и VEGF), которые способствуют пролиферации звездчатых клеток [9, 40].

Миофибробласты – основные мишени для антифибротической терапии печени. Они синтезируют и секретируют не только белки внеклеточного матрикса, но и широкий спектр ферментов, его разрушающих (MMPs), и специфические тканевые ингибиторы семейства металлопротеиназ (TIMPs). Примечательно, что миофибробласты необходимы для целостности органов, а их устранение способствует некрозу тканей и воспалению. Следовательно, стратегии лечения не должны устранять миофибробласты, – скорее ослаблять их фиброгенную активацию. Исследования на грызунах продемонстрировали, что приблизительно 50% активированных звездчатых клеток/миофибробластов печени подвергаются апоптозу во время реверсии фиброза, тогда как остальные возвращаются к покоящемуся фенотипу. Покой, вероятно, вызван ингибированием определенных интегринов фибробластов и клеточных рецепторов [3, 4]. Вещества, которые блокируют активацию и выработку внеклеточного матрикса миофибробластами, хорошо функционируют в культуре и на некоторых моделях фиброза печени у грызунов, но несут высокий риск нежелательных побочных эффектов у пациентов из-за отсутствия специфичности для миофибробластов [5, 40].

Фиброз печени – это динамический процесс, и нацеливания на один путь в этом процессе может быть недостаточно, чтобы вызвать его изменение. Учитывая перекрестные помехи между разными типами клеток, которые лежат в основе фиброгенной активации, комбинированный подход может быть более эффективным. Для разработки антифибротической терапии можно рассматривать три основные функциональные единицы, которые в разной степени способствуют фиброзу в зависимости от стадии заболевания [1, 2, 9, 40]:

1. Перисинусоидальная/сосудистая единица (печеночные звездчатые клетки, синусоидальные эндотелиальные клетки печени, клетки Купфера/макрофаги и гепатоциты).

2. «Воспалительная» единица (миофибробласты, Т-клетки и клетки Купфера/макрофаги).

3. Портальная/перипортальная единица (холангиоциты, протоковые клетки, портальные фибробласты и воспалительные клетки).

Первоочередной задачей является разработка биомаркеров, отражающих патогенез, на который нацелены лекарственные препараты. При фиброзе печени такие маркеры должны количественно определять степень фиброгенеза и/или фибролиза до лечения и во время его проведения и позволят индивидуально подобрать коррекцию дозы моно- или комбинированной терапии. Такие маркеры могут проложить путь к настоящему персонализированному лекарству. Достигнуты некоторые успехи в разработке и валидации биомаркеров, но их дальнейший поиск остается главным приоритетом при разработке антифибротических препаратов [1, 2, 9, 40].

## Выводы

Современные исследования предоставляют новые потенциальные подходы к лечению фиброза печени. При этом остается много вопросов без ответов. Основной механизм инактивации миофибробластов еще предстоит установить. Факторы, которые определяют судьбу миофибробластов при регрессии фиброза печени, до сих пор неизвестны. Переключением между двумя разными фенотипами макрофагов все еще трудно манипулировать *in vivo*. Недавние исследования показывают, что эпигенетическая регуляция

(микроРНК) также влияет на прогрессирование и разрешение фиброза печени. Большая часть исследований сосредоточена на звездчатых клетках/миофибробластах и воспалительных путях, но следует принимать во внимание перекрестные помехи между разными типами клеток и множественными сигнальными путями. На фиброз печени могут влиять жировая ткань, мышцы и кишечник. Будущие исследования приведут к полному пониманию клеточно-молекулярного механизма, лежащего в основе обратимости фиброза печени, и определенно дадут начало новым терапевтическим стратегиям лечения фиброза печени.

## References

- Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Mol. Aspects Med.* 2019;65:37-55. doi: 10.1016/j.mam.2018.09.002.
- Puente A, Fortea JI, Cabezas J, Arias Loste MT, Iruzubieta P, Llerena S, Huelin P, Fabrega E, Crespo J. LOXL2-A New Target in Antifibrogenic Therapy? *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(7):E1634. doi: 10.3390/ijms20071634.
- Mallat A, Lotersztajn S. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 5. Novel insights into liver fibrosis. *Am J. Physiol. Cell Physiol.* 2013;305(8):789-799. doi: 10.1152/ajpcell.00230.2013.
- Aydin MM, Akçali KC. Liver fibrosis. *Turk J. Gastroenterol.* 2018;29(1):14-21. doi: 10.5152/tjg.2018.17330.
- Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv. Drug Deliv Rev.* 2017;121:27-42. doi: 10.1016/j.addr.2017.05.007.
- Hou W, Syn WK. Role of Metabolism in Hepatic Stellate Cell Activation and Fibrogenesis. *Front Cell Dev. Biol.* 2018;6:150. doi: 10.3389/fcell.2018.00150.
- Barcena-Varela M, Colyn L, Fernandez-Barrena MG. Epigenetic Mechanisms in Hepatic Stellate Cell Activation During Liver Fibrosis and Carcinogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(10):2507. doi: 10.3390/ijms20102507.
- D'Ambrosio DN, Walewski JL, Clugston RD, Berk PD, Rippe RA, Blaner WS. Distinct populations of hepatic stellate cells in the mouse liver have different capacities for retinoid and lipid storage. *PLoS One.* 2011;6(9):e24993. doi: 10.1371/journal.pone.0024993.
- Elpek GÖ. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J. Gastroenterol.* 2014;20(23):7260-7276. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7260.
- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol. Rev.* 2008;88(1):125-172. doi: 10.1152/physrev.00013.2007.
- Bosselut N, Housset C, Marcelo P, Rey C, Burmester T, Vinh J, Vaubourdolle M, Cadoret A, Baudin B. Distinct proteomic features of two fibrogenic liver cell populations: hepatic stellate cells and portal myofibroblasts. *Proteomics.* 2010;10(5):1017-1028. doi: 10.1002/pmic.200900257.
- Asahina K. Hepatic stellate cell progenitor cells. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2012;27(Suppl 2):80-84. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.07001.x.
- Wu N, McDaniel K, Zhou T, Ramos-Lorenzo S, Wu C, Huang L, Chen D, Annable T, Francis H, Glaser S, Alpini G, Meng F. Knockout of microRNA-21 attenuates alcoholic hepatitis through the VHL/NF- $\kappa$ B signaling pathway in hepatic stellate cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2018;315(3):G385-G398. doi: 10.1152/ajpgi.00111.2018.
- Ebrahimi H, Naderian M, Sohrabpour AA. New Concepts on Reversibility and Targeting of Liver Fibrosis: A Review Article. *Middle East J. Dig. Dis.* 2018;10(3):133-148. doi: 10.15171/mejdd.2018.103.
- Dranoff JA, Wells RG. Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis. *Hepatology.* 2010;51(4):1438-1444. doi: 10.1002/hep.23405.
- Strieter RM, Keeley EC, Burdick MD, Mehrad B. The role of circulating mesenchymal progenitor cells, fibrocytes, in promoting pulmonary fibrosis. *Trans Am. Clin. Climatol Assoc.* 2009;120:49-59.
- Yovchev MI, Zhang J, Neufeld DS, Grozdanov PN, Dabeva MD. Thymus cell antigen-1-expressing cells in the oval cell compartment. *Hepatology.* 2009;50(2):601-611. doi: 10.1002/hep.23012.
- Strieter RM, Keeley EC, Burdick MD, Mehrad B. The role of circulating mesenchymal progenitor cells, fibrocytes, in promoting pulmonary fibrosis. *Trans Am. Clin. Climatol Assoc.* 2009;120:49-59.
- Taura K, Miura K, Iwaisako K, Osterreicher CH, Kodama Y, Penz-Osterreicher M, Brenner DA. Hepatocytes do not undergo epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis in mice. *Hepatology.* 2010;51(3):1027-1036. doi: 10.1002/hep.23368.
- Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat. Med.* 2012;18(7):1028-1040. doi: 10.1038/nm.2807.
- Malik AI, Williams A, Lemieux CL, White PA, Yauk CL. Hepatic mRNA, microRNA, and miR-34a-target responses in mice after 28 days exposure to doses of benzo (a) pyrene that elicit DNA damage and mutation. *Environ Mol. Mutagen.* 2012;53(1):10-21. doi: 10.1002/em.20668.
- Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat. Med.* 2012;18(7):1028-1040. doi: 10.1038/nm.2807.
- Cui M, Wang H, Yao X, Zhang D, Xie Y, Cui R, Zhang X. Circulating MicroRNAs in Cancer: Potential and Challenge. *Front. Genet.* 2019;10:626. doi: 10.3389/fgene.2019.00626.
- Ding BS, Cao Z, Lis R, Nolan DJ, Guo P, Simons M, Penfold ME, Shido K, Rabbany SY, Rafii S. Divergent angiocrine signals from vascular niche balance liver regeneration and fibrosis. *Nature.* 2014;505(7481):97-102. doi: 10.1038/nature12681.
- Iwakiri Y, Shah V, Rockey DC. Vascular pathobiology in chronic liver disease and cirrhosis – current status and future directions. *J. Hepatol.* 2014;61(4):912-924. doi: 10.1016/j.jhep.2014.05.047.
- Soini T, Pihlajoki M, Andersson N, Lohi J, Huppert KA, Rudnick DA, Huppert SS, Wilson DB, Pakarinen MP, Heikinheimo M. Transcription factor GATA6: a novel marker and putative inducer of ductal metaplasia in biliary atresia. *Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2018;314(5):G547-G558. doi: 10.1152/ajpgi.00362.2017.
- Michelotti GA, Tucker A, Swiderska-Syn M, Machado MV, Choi SS, Kruger L, Soderblom E, Thompson JW, Mayer-Salman M, Himburg HA, Moylan CA, Guy CD, Garman KS, Premont RT, Chute JP, Diehl AM. Pleiotrophin regulates the ductular reaction by controlling the migration of cells in liver progenitor niches. *Gut.* 2016;65(4):683-692. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308176.
- Tacke F. Functional role of intrahepatic monocyte subsets for the progression of liver inflammation and liver fibrosis in vivo. *Exp. Ther. Med.* 2019;17(5):3835-3847. doi: 10.1186/1755-1536-5-S1-S27.
- Sun YY, Li XF, Meng XM, Huang C, Zhang L, Li J. Macrophage Phenotype in Liver Injury and Repair. *Scand J. Immunol.* 2017;85(3):166-174. doi: 10.1111/sji.12468.

30. Wan J, Benkdane M, Teixeira-Clerc F, Bonnafous S, Louvet A, Lafdil F, Pecker F, Tran A, Gual P, Mallat A, Lotersztajn S, Pavoine C. M2 Kupffer cells promote M1 Kupffer cell apoptosis: a protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;59(1):130-142. doi: 10.1002/hep.26607.
31. Dey A, Allen J, Hankey-Giblin PA. Ontogeny and polarization of macrophages in inflammation: blood monocytes versus tissue macrophages. *Front. Immunol.* 2015;5:683. doi: 10.3389/fimmu.2014.00683.
32. Lokhonina A, Elchaninov A, Fatkhudinov T, Makarov A, Arutyunyan I, Grinberg M, Glinkina V, Surovtsev V, Bolshakova G, Goldshtein D, Sukhikh G. Activated Macrophages of Monocytic Origin Predominantly Express Proinflammatory Cytokine Genes, Whereas Kupffer Cells Predominantly Express Anti-Inflammatory Cytokine Genes. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:1-13. doi: 10.1155/2019/3912142.
33. Yang W, Tao Y, Wu Y, Zhao X, Ye W, Zhao D, Fu L, Tian C, Yang J, He F, Tang L. Neutrophils promote the development of reparative macrophages mediated by ROS to orchestrate liver repair. *Nat Commun.* 2019;10(1):1076. doi: 10.1038/s41467-019-09046-8.
34. Bartneck M, Schrammen PL, Möckel D, Govaere O, Liepelt A, Krenkel O, Ergen C, McCain MV, Eulberg D, Luedde T, Trautwein C, Kiessling F, Reeves H, Lammers T, Tacke F. The CCR2+ Macrophage Subset Promotes Pathogenic Angiogenesis for Tumor Vascularization in Fibrotic Livers. *Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 2019;7(2):371-390. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.10.007.
35. Rehermann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat. Med.* 2013;19(7):859-868. doi: 10.1038/nm.3251.
36. Radaeva S, Sun R, Jaruga B, Nguyen VT, Tian Z, Gao B. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners. *Gastroenterology*. 2006;130(2):435-452.
37. Zhan Z, Chen Y, Duan Y, Li L, Mew K, Hu P, Ren H, Peng M. Identification of key genes, pathways and potential therapeutic agents for liver fibrosis using an integrated bioinformatics analysis. *Peer J*. 2019;7:e6645. doi: 10.7717/peerj.6645.
38. Ghatak S, Biswas A, Dhali GK, Chowdhury A, Boyer JL, Santra A. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011;251(1):59-69. doi: 10.1016/j.taap.2010.11.016.
39. Liu T, Wang P, Cong M, Xu Y, Jia J, You H. The CYP2E1 inhibitor DDC up-regulates MMP-1 expression in hepatic stellate cells via an ERK1/2- and Akt-dependent mechanism. *Biosci. Rep.* 2013;33(3):e00041. doi: 10.1042/BSR20130033.
40. Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story. *Gut*. 2015;64(5):830-841. doi: 10.1136/gutjnl-2014-306842.
41. Huebener P, Schwabe RF. Regulation of wound healing and organ fibrosis by toll-like receptors. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013;1832(7):1005-1017. doi: 10.1016/j.bbdis.2012.11.017.
42. Li J, Wang FP, She WM, Yang CQ, Li L, Tu CT, Wang JY, Jiang W. Enhanced high-mobility group box 1 (HMGB1) modulates regulatory T cells (Treg)/T helper 17 (Th17) balance via toll-like receptor (TLR)-4-interleukin (IL)-6 pathway in patients with chronic hepatitis B. *J. Viral. Hepat.* 2014;21(2):129-140. doi: 10.1111/jvh.12152.
43. Liu C, Chen X, Yang L, Kisseleva T, Brenner DA, Seki E. Transcriptional repression of the transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Pseudoreceptor BMP and activin membrane-bound inhibitor (BAMBI) by Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) p50 enhances TGF- $\beta$  signaling in hepatic stellate cells. *J. Biol. Chem.* 2014;289(10):7082-7091. doi: 10.1074/jbc.M113.543769.
44. Yoshida K, Matsuzaki K. Differential Regulation of TGF- $\beta$ /Smad Signaling in Hepatic Stellate Cells between Acute and Chronic Liver Injuries. *Front. Physiol.* 2012;3:53. doi: 10.3389/fphys.2012.00053.
45. Yang L, Pang Y, Moses HL. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends. Immunol.* 2010;31(6):220-227. doi: 10.1016/j.it.2010.04.002.
46. Yi HS, Lee YS, Byun JS, Seo W, Jeong JM, Park O, Duester G, Haseba T, Kim SC, Park KG, Gao B, Jeong WI. Alcohol dehydrogenase III exacerbates liver fibrosis by enhancing stellate cell activation and suppressing natural killer cells in mice. *Hepatology*. 2014;60(3):1044-1053. doi: 10.1002/hep.27137.
47. Mallat A, Teixeira-Clerc F, Lotersztajn S. Cannabinoid signaling and liver therapeutics. *J. Hepatol.* 2013;59(4):891-896. doi: 10.1016/j.jhep.2013.03.032.
48. Liu Y, Jin L, Lou P, Gu Y, Li M, Li X. Dynamic microRNAome profiles in the developing porcine liver. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2017;81(1):127-134.
49. Amr KS, Elmawgoud Atia HA, Elazeem Elbnhawry RA, Ezzat WM. Early diagnostic evaluation of miR-122 and miR-224 as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Genes Dis.* 2017;4(4):215-221. doi: 10.1016/j.gendis.2017.10.003.
50. Calvente CJ, Tameda M, Johnson CD, Del Pilar H, Lin YC, Adronikou N, De Mollerat Du Jeu X, Llorente C, Boyer J, Feldstein AE. Neutrophils contribute to spontaneous resolution of liver inflammation and fibrosis via microRNA-223. *J. Clin. Invest.* 2019;130:4091-4109. doi: 10.1172/JCI122258.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Сведения об авторах:**

Лебедева Елена Ивановна; канд. биол. наук, доцент; Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет; e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-1309-4248

Мяделец Олег Данилович, д-р мед. наук, профессор; Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет; ORCID:0000-0002-6781-5584

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Information about authors:**

Lebedeva Elena; PhD (Biology), Associate Professor; Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University; e-mail: lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-1309-4248

Myadelets Oleg, PhD, MD (Medicine), Professor; Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University; ORCID:0000-0002-6781-5584

Поступила: 30.08.2019

Принята к печати: 25.09.2019

Received: 30.08.2019

Accepted: 25.09.2019