

ЭКСПРЕССИЯ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ TLR2, TLR3, TLR4 И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ TNF И IL-6 В БИОПТАТАХ ПАЦИЕНТОВ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

**Боголюбова А.В.¹, Мишина Е.Е.², Богомолов П.О.³, Мациевич М.В.⁴,
Кокина К.Ю.³, Майоров А.Ю.², Белоусов П.В.¹**

¹ ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

³ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

⁴ ООО «Клиническая больница Центросоюза РФ», Москва, Россия

Резюме. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) представляет собой группу тесно ассоциированных с ожирением заболеваний, являющихся одними из наиболее распространенных и социально значимых патологий печени в современном западном мире. Возникновение и прогрессия НАЖБП от простого стеатоза в неалкогольный стеатогепатит с последующим развитием фиброза являются ведущими факторами в патогенезе значительной части случаев наиболее тяжелых патологий печени, таких как цирроз и печеночно-клеточный рак, а также внепеченочных метаболических осложнений НАЖБП, таких как инсулинорезистентность и сахарный диабет 2 типа. Воспалительный компонент является важнейшим фактором патогенеза НАЖБП, в частности в рамках прогрессии простого стеатоза в неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). Вместе с тем роль важнейших медиаторов воспалительного ответа – рецепторов врожденного иммунитета, в частности TOLL-подобных рецепторов, в патогенезе НАЖБП изучена крайне фрагментарно. В представленной работе мы при помощи биоинформатического анализа находящихся в публичном доступе баз данных экспрессионных профилей выявили, что из всех TOLL-подобных рецепторов в нормальной ткани печени человека на достаточно высоком уровне экспрессируются только TOLL-подобные рецепторы TLR1, TLR2, TLR3 и TLR4, экспрессия мРНК трех из которых (TLR2, TLR3 и TLR4), а также важнейших медиаторов иммунного ответа провоспалительных цитокинов фактора некроза опухоли (TNF) и интерлейкина-6 (IL-6) была далее проанализирована нами при помощи ПЦР с обратной транскрипцией в биоптатах печени 20 пациентов с НАЖБП (стеатоз, n = 10; неалкогольный стеатогепатит, n = 10), а также 4 пациентов с

Адрес для переписки:

Боголюбова Аполлинария Васильевна
ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени
В.А. Энгельгардта» Российской академии наук
119991, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32.
Тел.: 8 (499) 135-99-64.
Факс: 8 (499) 135-14-05.
E-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com

Address for correspondence:

Bogolyubova Apollinariya V.
Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy
of Sciences
119991, Russian Federation, Moscow, Vavilova str., 32.
Phone: 7 (499) 135-99-64.
Fax: 7 (499) 135-14-05.
E-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com

Образец цитирования:

А.В. Боголюбова, Е.Е. Мишина, П.О. Богомолов, М.В. Мациевич, К.Ю. Кокина, А.Ю. Майоров, П.В. Белоусов
«Экспрессия TOLL-подобных рецепторов TLR2, TLR3, TLR4 и провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени» // Медицинская иммунология, 2019, Т. 21, № 5. С. 945-952.

doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-945-952

© Боголюбова А.В. и соавт., 2019

For citation:

A.V. Bogolyubova, E.E. Mishina, P.O. Bogomolov, M.V. Matsievich, K.Yu. Kokina, A.Yu. Mayorov, P.V. Belousov
“Expression of TLR2, TLR3, TLR4 and proinflammatory TNF and IL-6 cytokines in liver biopsies of nonalcoholic fatty liver disease patients”, Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 5, pp. 945-952.

doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-945-952

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-945-952

клиническим подозрением на НАЖБП, у которых, однако, в биоптатах печени отсутствовали гистологические признаки НАЖБП. Нами было обнаружено значительное увеличение экспрессии мРНК TLR2, TLR3 и TLR4 в биоптатах печени пациентов с НАСГ по сравнению с контрольной выборкой пациентов без гистологических признаков НАЖБП. Также была показана ассоциация уровня экспрессии мРНК данных рецепторов со степенью повреждения печени по данным гистологического анализа (уровень стеатоза и баллонной дистрофии гепатоцитов), а также с концентрацией в плазме крови пациентов мочевой кислоты, важнейшего эндогенного стимулятора врожденного иммунитета. Полученные нами данные указывают на возможную вовлеченность врожденного иммунитета, а именно Toll-подобных рецепторов, в патогенез НАЖБП.

Ключевые слова: Toll-подобные рецепторы, провоспалительные цитокины, неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, стеатоз

EXPRESSION OF TLR2, TLR3, TLR4 AND PROINFLAMMATORY TNF AND IL-6 CYTOKINES IN LIVER BIOPSIES OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE PATIENTS

Bogolyubova A.V.^a, Mishina E.E.^b, Bogomolov P.O.^c, Matsievich M.V.^d,
Kokina K.Yu.^c, Mayorov A.Yu.^b, Belousov P.V.^a

^a Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^b Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

^c Moscow Regional M. Vladimirsky Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

^d LTD "Clinical Hospital of Russian Central Union", Moscow, Russian Federation

Abstract. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a group of conditions closely associated with obesity that are among the most common and socially significant liver diseases in the modern Western world. The emergence and progression of NAFLD from simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis with the subsequent development of fibrosis are the leading factors in the pathogenesis of a significant proportion of the most severe liver pathologies, such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma, as well as extrahepatic metabolic complications of NAFLD, such as insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. The inflammatory component is one of the most important factors in the pathogenesis of NAFLD, particularly in the context of the progression of simple steatosis to non-alcoholic steatohepatitis. At the same time, the role of the most important mediators of the inflammatory response, innate immunity receptors and the Toll-like receptors in particular, in the pathogenesis of NAFLD has been poorly studied. In the present work, we first used the bioinformatics analysis of the publicly available gene expression databases to demonstrate that only TLR1, TLR2, TLR3 and TLR4 were significantly expressed in the healthy human liver. We then used the reverse transcription PCR to measure the mRNA expression levels of TLR2, TLR3, and TLR4, as well as those of the important pro-inflammatory mediators tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6), in the liver biopsy specimens obtained from 20 patients with NAFLD (simple steatosis, n = 10; non-alcoholic steatohepatitis, n = 10), as well as from 4 obese patients with clinical suspicion for NAFLD but no histological signs of NAFLD in their liver biopsies. We found a significant increase in the expression of TLR2, TLR3 and TLR4 mRNA in liver biopsy samples obtained from patients with non-alcoholic steatohepatitis as compared to those obtained from controls without histological signs of NAFLD. We were also able to demonstrate the association between the hepatic levels of TLR2, TLR3 and TLR4 mRNAs with the histological degree of liver damage as evidenced by the degree of steatosis and balloon dystrophy of hepatocytes, as well as with the plasma levels of uric acid, the important endogenous stimulator of innate immunity. Our data indicate the possible involvement of innate immunity, particularly the Toll-like receptors, in the pathogenesis of NAFLD.

Keywords: Toll-like receptors, proinflammatory cytokines, nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, steatosis

Результаты исследований экспрессии Toll-подобных рецепторов получены за счет средств Российского научного фонда (грант 17-15-01475). Экспрессия провоспалительных цитокинов была изучена в рамках Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (тема № 01201363822).

Введение

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – это группа связанных с ожирением патологических состояний печени, характеризующихся накоплением в паренхиме органа аномально количества липидов. Выделяют несколько стадий НАЖБП от печеночного стеатоза до неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), фиброза и цирроза печени (который может прогрессировать в печеночно-клеточный рак) [1]. Ряд исследований показал, что воспаление, сопровождающее прогрессию НАЖБП, может быть связано с сигналингом Toll-подобных рецепторов (TLR) [3, 5, 6, 9, 10].

Toll-подобные рецепторы (TLR) – группа рецепторов врожденного иммунитета, отвечающая за распознавание чужеродных организму бактерий и вирусов. В моделях на животных было неоднократно показано, что НАЖБП сопровождается изменением в уровне бактериальных эндотоксинов, которые, в свою очередь, влияют на экспрессию TLR и активацию их сигнальных путей, приводящих, в частности, к экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как TNF [7].

Изучение экспрессии TLR в образцах печени больных НАЖБП ранее проводилось на весьма ограниченных выборках. **Целью данной работы** является изучение экспрессии TLR2, TLR3 и TLR4, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в 20 образцах печени больных с НАЖБП и 4 контрольных образцах и анализ корреляции между экспрессией этих молекул и клинико-морфологическими параметрами НАЖБП.

Материалы и методы

Пациенты

Для исследования были взяты пациенты, проходившие обследование в Институте диабета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России и в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в 2017–2018 годах. Для всех пациентов было проведено полное клинико-лабораторное исследование: оценка липидного спектра (оценка уровней общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПВП), печеночной функции (АЛТ, АСТ, билирубин общий), почечной функции (креатинин, мочевины), электролитного статуса (кальций общий), анализ на ферритин, общий белок,

ТАБЛИЦА 1. ЭКСПРЕССИЯ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ, СОГЛАСНО ДАННЫМ ТРАНСКРИПТОМНОГО АНАЛИЗА

TABLE 1. EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTORS IN LIVER TISSUE, ACCORDING TO TRANSCRIPTOME ANALYSIS

	HPA	GTE _x	FANTOM5
TLR1	4,5	0,4	8,2
TLR2	3,8	2,7	NA
TLR3	7,7	0,8	13,6
TLR4	9,6	1,5	28,6
TLR5	0,8	0,4	1,9
TLR6	1	0,2	0,4
TLR7	0,3	0	1,4
TLR8	1,1	0,1	7,2
TLR9	0	0,6	NA
TLR10	0,2	0	0,4

Примечание. HPA – Human protein atlas, GTE_x – Genome-based tissue expression.

Note. HPA, Human protein atlas; GTE_x, Genome-based tissue expression.

щелочную фосфатазу, гамма-ГТ, мочевую кислоту. Кроме того, всем пациентам проведена биоимпедансометрия, а также ультразвуковое исследование брюшной полости для оценки размеров и структурных изменений печени и эластография сдвиговой волны печени для оценки ее упругости и стадии фиброза по системе METAVIR.

Далее всем пациентам из исследуемой группы была выполнена биопсия печени под ультразвуковым контролем с дальнейшим морфологическим исследованием биоптата, при котором оценивались структурные изменения ткани: индекс гистологической активности, индекс фиброза (по методу K.G. Ishak), а также наличие и степень выраженности стеатоза гепатоцитов. Для определения степени поражения печени использовалась классификация NAS (NAFLD activity score, уровень активности НАЖБП).

Исходя из полученных результатов, диагноз «НАСГ и стеатоз» был поставлен 10 и 10 пациентам соответственно, у 4 пациентов признаков НАЖБП обнаружено не было, и они составили контрольную группу.

Выделение РНК и синтез кДНК

Пробы ткани печени измельчали в 500 мкл реактива ExtractRNA (Евроген, Москва) и далее выделяли тотальную РНК согласно протоколу производителя. Концентрацию полученной РНК измеряли при помощи прибора NanoDrop

Inc. Обратную транскрипцию проводили при помощи набора MMLV RT Kit (Евроген, Москва), используя 2 мкг тотальной РНК и олиго-dT/Random праймеров, взятых в соотношении 1:2, согласно протоколу производителя.

ПЦР в реальном времени

Уровень мРНК Toll-подобных рецепторов TLR2, TLR3, TLR4, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 измеряли методом ПЦР в реальном времени с использованием праймеров, последовательности которых представлены в таблице 1, и смеси qPCR mix-HS SYBR + LowROX (Евроген, Россия) [11]. Относительный уровень экспрессии генов определяли методом $\Delta\Delta C_t$ и нормализовали на уровень экспрессии референтного гена человеческого β -актина.

Список праймеров, использованных при проведении количественного ПЦР анализа:

ActB-Fwd	ACTGGGACGACATGGAGAAA
ActB-Rev	GGCGTACAGGGATAGCACAG
TLR2-Fwd	GAAAGCTCCCAGCAGGAACATC
TLR2-Rev	GAATGAAGTCCCGCTTATGAAGACA
TLR3-Fwd	GGACTTTGAGGCGGGTGT
TLR3-Rev	TGTTGAAGTGCATGATGTACCTTGA
TLR4-Fwd	TGCGTGGAGGTGGTTCCTA
TLR4-Rev	GGCTCTGATATGCCCCATCT
TNF-Fwd	CTGCACTTTGGAGTGATCGG
TNF-Rev	TGAGGGTTTGCTACAACATGG
IL6-Fwd	AACAACCTGAACCTTCCA
IL6-Rev	GCTTGTTCCCTCACTACTCTC

Статистическая обработка результатов

Сравнение экспрессии молекул между исследуемыми группами проводили в программе GraphPad Prism 6.0 с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Анализ корреляции проводили с использованием языка программирования R с применением пакета Hmisc для вычисления коэффициента корреляции Спирмена и соответствующих р-уровней значимости.

Результаты

Для формирования перечня Toll-подобных рецепторов, которые мы хотели бы изучить в рамках данного исследования, нами была оценена экспрессия всех Toll-подобных рецепторов человека по данным консорциумов FANTOM5, Human Protein Atlas (HPA) и Genome-based Tissue

Expression (GTEx), взятым из базы данных Protein Atlas (<https://www.proteinatlas.org/>). Было показано, что в нормальной ткани печени на детектируемом уровне экспрессируются TLR1, TLR2, TLR3 и TLR4, тогда как экспрессия остальных молекул наблюдается на очень низком уровне (табл. 1). Поскольку TLR1 и TLR2 формируют гетеродимер, нами было принято решение взять в исследование один из рецепторов, а именно TLR2.

Был проведен анализ экспрессии трех Toll-подобных рецепторов, TLR2, TLR3, TLR4, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в пробах печени больных НАЖБП различных стадий (стеатоз и НАСГ) и контрольных пробах методом количественного ПЦР (рис. 1). Экспрессия всех Toll-подобных рецепторов увеличивается в ходе прогрессии заболевания. Статистически значимые различия наблюдаются между группой с НАСГ и контролем для всех исследуемых рецепторов. В то же время различия между двумя стадиями НАЖБП, НАСГ и стеатозом являются статистически значимыми для TLR3 и TLR4; в случае TLR2 такая тенденция прослеживается, однако является статистически недостоверной.

Статистически значимых различий между уровнями экспрессии провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах печени пациентов НАЖБП и контрольными пробами показать не удалось (рис. 2). Для TNF такая тенденция прослеживается, однако большой разброс значений относительной экспрессии не позволяет считать результаты статистически значимыми.

Нами были исследованы факторы, которые ассоциированы с повышенной экспрессией Toll-подобных рецепторов в клетках печени больных с НАЖБП. Для этого был проведен корреляционный анализ экспрессии всех анализируемых молекул с клиническими параметрами пациентов, включающими параметры, характеризующие нарушения углеводного обмена, метаболизм липидов и мочевины, а также с цитологическими параметрами печени, характеризующими степень ее поражения (процент стеатоза, баллонная дистрофия).

В таблице 2 приведены результаты корреляционного анализа для параметров, которые демонстрировали статистически значимую связь с уровнем экспрессии анализируемой мРНК. Мы видим, что уровень экспрессии как Toll-подобных рецепторов, так и провоспалительных цитокинов коррелирует между собой. Кроме того, корреляция наблюдалась между параметрами, указывающими на степень поражения печени (процент стеатоза, наличие баллонной дистрофии), и экспрессией нескольких Toll-подобных рецепторов. Также была отмечена корреляция между повышенным содержанием мочевины в сыво-

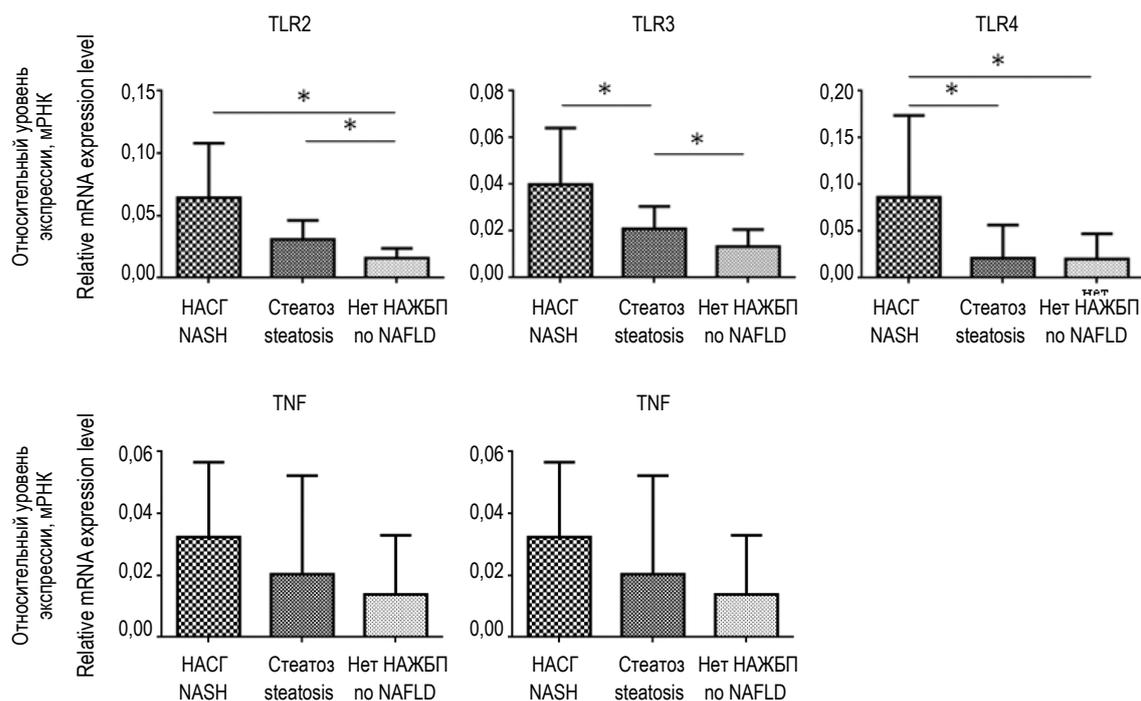


Рисунок 1. Уровень относительной экспрессии мРНК Толл-подобных рецепторов TLR2, TLR3, TLR4, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах печени с НАЖБП (НАСГ, n = 10; стеатоз, n = 10) и контрольных образцах (n = 4)

Примечание. * – p < 0,05 по U-критерию Манна–Уитни.

Figure 1. The level of relative expression of the mRNA of Toll-like receptors TLR2, TLR3, TLR4 receptors, as well as of the proinflammatory cytokines TNF and IL-6 in liver biopsy samples with NAFLD (NASH, n = 10; steatosis, n = 10) and control samples (n = 4)

Note. *, p < 0.05 according to the Mann–Whitney U test.

ТАБЛИЦА 2. КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ЭКСПРЕССИЕЙ мРНК АНАЛИЗИРУЕМЫХ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И НЕКОТОРЫМИ КЛИНИКО-ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ (КОЭФФИЦИЕНТЫ КОРРЕЛЯЦИИ СПИРМЕНА)

TABLE 2. CORRELATION BETWEEN mRNA EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTORS AND PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND SOME CLINICOPATHOLOGICAL PARAMETERS (SPEARMAN CORRELATION COEFFICIENTS)

	TLR2	TLR3	TLR4	TNF	IL-6
TLR2	1	0,87*	0,77*	0,75*	0,52*
TLR3	0,87*	1	0,76*	0,70*	0,49*
TLR4	0,77*	0,76*	1	0,87*	0,68*
TNF	0,75*	0,70*	0,87*	1	0,74
IL-6	0,52*	0,49*	0,68*	0,74*	1
С (мочевая кислота) C (uric acid)	0,47*	0,44*	0,34*	0,37	0,51*
Стеатоз (по системе Брунта) Steatosis (according to the Brunt system)	0,46*	0,45*	0,08	0,07	-0,21
Баллонная дистрофия Ballooning degeneration	0,52*	0,53*	0,37*	0,24	-0,02
Баллы по NAS NAS scores	0,44*	0,50*	0,22	0,18	-0,05

Примечание. * – p < 0,05.

Note. *, p < 0.05.

ротке крови и экспрессией большинства изучаемых молекул.

Обсуждение

НАЖБП – одно из наиболее распространенных заболеваний печени в развитых странах. В то же время механизмы ее развития и прогрессии изучены не до конца. Показано, что важнейшими факторами, приводящими к развитию НАЖБП, являются ожирение, нарушение метаболизма глюкозы, а также изменения в составе микрофлоры кишечника [1].

Рецепторы врожденного иммунитета, такие как Toll-подобные рецепторы, являются ключевыми факторами иммунной системы, реагирующими в ответ на факторы патогенности (PAMP – pathogen associated molecular patterns). Кроме того, для некоторых из TLR показана активация в ответ на экспрессию факторов стресса (DAMP – danger associated molecular patterns) [4]. В ходе прогрессии НАЖБП может наблюдаться увеличение как факторов патогенности в результате дисрегуляции микробиома кишечника, так и факторов стресса, связанного с нарушениями метаболизма глюкозы и липидов в организме [8].

Ранее в нескольких работах было показано увеличение экспрессии TLR4 в печени в ходе прогрессии НАЖБП. Так, в работе Sharifnia и соавт. была исследована экспрессия TLR4 в биопсиях печени 61 пациенток с НАЖБП методом ПЦР в реальном времени, а также сывороточный уровень липополисахарида, и показано значительное увеличение данных параметров в группе пациентов с НАСГ по сравнению с пациентами со стеатозом [10]. Несколько исследований также показывают увеличение экспрессии Toll-подобных рецепторов в сыворотке крови и в биопсиях печени пациентов с НАЖБП. Так, в работе du Plessis с соавт. было проанализировано содержание TLR2 и TLR4 в сыворотке 81 пациента с различными стадиями НАЖБП и 10 контрольных сыворотках с применением иммуноферментного анализа и показаны различия между этими двумя группами [9]. В работе Liu и соавт. было проведено иммуногистохимическое окрашивание срезов биопсий печени пациентов с НАСГ, алкогольным стеатогепатитом и пациентов без признаков печеночного стеатоза на TLR3 и TLR4 и показано, что экспрессия этих молекул значительно выше в группах больных стеатогепатитом различной природы, нежели в контрольной группе [6]. В работе же Kiziltas и соавт. сравнивали соотношение различных однонуклеотидных полиморфизмов TLR4 между группами пациентов с НАЖБП и здоровых доноров и показали, что в группе больных НАЖБП присутствие гетерозиготной мутации Asp299Gly значительно ниже, чем в контрольной группе [5].

Эти данные могут указывать на вовлеченность TLR4 в патогенез НАЖБП.

Экспрессия всех Toll-подобных рецепторов в биоптатах печени была исследована в работе Kanugi и соавт., в которой было показано, что экспрессия TLR1-5 значительно выше у пациентов с НАЖБП по сравнению с контролем, тогда как экспрессия TLR6-10 не различалась между группами [3]. Существенным недостатком этого исследования является то, что авторы в ходе анализа результатов не делили когорту пациентов с НАЖБП на различные стадии заболевания.

Нами был проведен анализ экспрессии Toll-подобных рецепторов TLR2, TLR3 и TLR4, экспрессия которых наблюдается и в здоровой ткани печени, а также провоспалительных цитокинов TNF и IL-6 в биоптатах печени 20 пациентов с НАЖБП (у 10 из них был диагностирован стеатоз, у 10 – НАСГ) и 4 контрольных образцах. Кроме того, был проведен корреляционный анализ между различными клинико-диагностическими параметрами и уровнем экспрессии анализируемых молекул.

Нами было показано, что экспрессия всех анализируемых Toll-подобных рецепторов увеличивается в ходе прогрессии заболевания, что соотносится с литературными данными. Экспрессия же провоспалительных цитокинов статистически не различается между анализируемыми группами (рис. 1). В случае TNF наблюдается закономерное увеличение экспрессии в ходе прогрессии НАЖБП, однако, ввиду значительных колебаний значений, этот тренд не является статистически достоверным. По всей видимости, необходима большая выборка пациентов, чтобы подтвердить наши наблюдения.

В результате корреляционного анализа было показано, что некоторые клинико-диагностические параметры связаны с экспрессией анализируемых молекул (табл. 2). Так, показатели поражения печени, такие как уровень стеатоза (по Brunt) и баллонной дистрофии, статистически значимо коррелируют с увеличением экспрессии Toll-подобных рецепторов. Возможно, это связано с увеличением факторов стресса, сопровождающим разрушение клеток печени в процессе НАЖБП. Кроме того, существенная корреляция наблюдалась между экспрессией Toll-подобных рецепторов и уровнем мочевой кислоты в сыворотке крови пациентов. Мочевая кислота является одним из наиболее изученных факторов стресса, который может активировать рецепторы врожденного иммунитета [2]. Тем не менее ее вовлеченность в прогрессию НАЖБП ранее не была показана. Таким образом, оценка экспрессии Toll-подобных рецепторов может служить дополнительным параметром при оценке прогрессии НАЖБП.

Список литературы / References

1. Benedict M., Zhang X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J. Hepatol.*, 2017, Vol. 9, no. 16, pp. 715-732.
2. Ghaemi-Oskouie F, Shi Y. The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Curr. Rheumat. Rep.*, 2011, Vol. 13, no. 2, pp. 160-166.
3. Kanuri G., Ladurner R., Skibovskaya J., Spruss A., Königsrainer A., Bischoff S.C., Bergheim I. Expression of Toll-like receptors 1-5 but not TLR 6-10 is elevated in livers of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.*, 2015, Vol. 35, no. 2, pp. 562-568.
4. Kawasaki T. and Kawai T. Toll-like Receptor signaling pathways. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, p. 461.
5. Kiziltas S., Ata P., Colak Y., Mesçi B., Senates E., Enc F., Ulasoglu C., Tuncer I., Oguz A. TLR4 gene polymorphism in patients with nonalcoholic fatty liver disease in comparison to healthy controls. *Metab. Syndr. Relat. Disord.*, 2014, Vol. 12, no. 3, pp. 165-170.
6. Liu H., Li J., Tillman B., Morgan T.R., French B.A., French S.W. TLR3/4 Signaling is mediated via the NFκB-CXCR4/7 pathway in human alcoholic hepatitis and non-alcoholic steatohepatitis which formed mallory-denk bodies. *Exp. Mol. Pathol.*, 2014, Vol. 97, no. 2, pp. 234-240.
7. Miura K., Ohnishi H. Role of gut microbiota and Toll-like receptors in nonalcoholic fatty liver disease. *World J. Gastroenterol.*, 2014, Vol. 20, no. 23, pp. 7381-7391.
8. Miura K., Seki E., Ohnishi H., Brenner D.A. Role of Toll-like receptors and their downstream molecules in the development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol. Res. Pract.*, 2010, Vol. 2010, 362847. doi: 10.1155/2010/362847.
9. du Plessis J., Korf H., van Pelt J., Windmolders P., Vander Elst I., Verrijken A., Hubens G., van Gaal L., Cassiman D., Nevens F., Francque S., van der Merwe S. Pro-inflammatory cytokines but not endotoxin-related parameters associate with disease severity in patients with NAFLD. *PLoS ONE*, 2016, Vol. 11, no. 12, e0166048. doi: 10.1371/journal.pone.0166048.
10. Sharifnia T., Antoun J., Verriere T.G., Suarez G., Wattacheril J., Wilson K.T., Peek R.M. Jr, Abumrad N.N., Flynn C.R. Hepatic TLR4 signaling in obese NAFLD. *Am. J. Physiology. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2015, Vol. 309, no. 4, pp. G270-278.
11. Sviriaeva E.N., Korneev K.V., Drutskaya M.S., Nedospasov S.A., Kuprash D.V. Modeling of viral-bacterial coinfections at the molecular level using agonists of innate immunity receptors. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2016, Vol. 471, no. 1, pp. 393-395.

Авторы:

Боголюбова А.В. — младший научный сотрудник лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Мишина Е.Е. — научный сотрудник отдела прогнозирования и инноваций диабета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Богомолов П.О. — к.м.н., профессор, руководитель отдела гепатологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Мацевич М.В. — к.м.н., заведующая отделением гастроэнтерологии ООО «Клиническая больница Центросоюза РФ», Москва, Россия

Authors:

Bogolyubova A.V., Junior Research Associate, Laboratory of Intracellular Signaling in Health and Disease, V. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Mishina E.E., Research Associate, Department of Prediction and Innovations in Diabetes, National Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

Bogomolov P.O., PhD (Medicine), Head, Department of Hepatology, Moscow Regional M. Vladimirovsky Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Matsievich M.V., PhD (Medicine), Head, Department of Gastroenterology, LTD "Clinical Hospital of Russian Central Union", Moscow, Russian Federation

Кокина К.Ю. — научный сотрудник отдела гепатологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Майоров А.Ю. — д.м.н., заведующий отделом прогнозирования и инноваций диабета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Белусов П.В. — младший научный сотрудник лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Россия

Kokina K. Yu., Research Associate, Department of Hepatology, Moscow Regional M. Vladimirovsky Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Mayorov A. Yu., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Prediction and Innovations in Diabetes, National Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

Belousov P. V., Junior Research Associate, Laboratory of Intracellular Signaling in Health and Disease, V. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Поступила 02.10.2018
Отправлена на доработку 15.10.2018
Принята к печати 19.10.2018

Received 02.10.2018
Revision received 15.10.2018
Accepted 19.10.2018