



В. Г. Передерий, А. К. Сизенко, Т. А. Потехина

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев

Укорочение теломер как генетический фактор риска цирроза печени

Значительная вариабельность течения хронических заболеваний печени у пациентов с одинаковыми внешними факторами риска наталкивает на мысль о значимости генетической предрасположенности к развитию цирроза печени. Изучение генетических маркеров хронических заболеваний печени позволяет не только лучше понять патогенез, но и расширить прогностические и в перспективе — терапевтические возможности. Перспективной и активно изучаемой является концепция укорочения теломер, подтвержденная в ряде эпидемиологических и экспериментальных исследований. Укорочение теломер может быть следствием повышенной регенераторной митотической активности гепатоцитов, мутаций и эпигенетических изменений активности генов теломеразного комплекса. Представлены данные о связи теломеразных мутаций и укорочения теломер с заболеваниями печени.

Ключевые слова: теломеры, теломераза, оксидантный стресс, репликативное старение клеток, цирроз печени.

За последние 30 лет произошел значительный прогресс в понимании патогенеза и лечения заболеваний печени. Однако хроническая патология печени по-прежнему остается одной из важных причин заболеваемости и смертности в мире. Так, в странах ЕС около 29 млн лиц страдают от хронических заболеваний печени и ассоциированных с ними осложнений. Цирроз и первичный рак печени представляют собой конечную стадию печеночной патологии. Имеющиеся данные позволяют предположить, что около 0,1% европейской популяции страдает циррозом печени разной стадии, что соответствует 14–26 новым случаям на 100 тыс. населения. По предварительным оценкам, цирроз является причиной 170 тыс. смертей в год [4].

Несмотря на улучшение знаний относительно заболеваний печени, патогенез цирроза печени до сих пор окончательно не установлен. У большинства пациентов можно определить такие факторы риска, как вирусные гепатиты В и С, употребление алкоголя, токсические поражения печени, неалкогольный стеатогепатит. У остальных больных упомянутые факторы риска отсутствуют. Модель развития хронического заболевания печени характеризуется значительной ва-

риабельностью. Среди лиц с идентичными факторами риска в одних случаях заболевание резко прогрессирует до формирования цирроза или развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), в других — наблюдается доброкачественный характер течения. Четкое понимание патогенеза данного состояния необходимо для создания новых диагностических и терапевтических средств. Выявление генетических факторов риска, ассоциированных с циррозом печени, является одним из возможных подходов для достижения этой цели.

За последние годы накоплены доказательства роли генетических факторов в развитии цирроза. Недавно была предложена генетическая шкала оценки риска цирроза на основе панели из семи однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в шести генах: *AP3S2*, *AQP2*, *AZIN1*, *STXBP5L*, *TLR4*, *TRPM5* и в межгенной области между *DEGS1* и *NVL* для пациентов европеоидной расы с хроническим гепатитом С [15]. По данным авторов, прогностическая способность данной панели более высока по сравнению с клиническими факторами. Эффективность данных маркеров также подтверждена в другом исследовании [18], по результатам которого сделано заключение о том, что наличие определенных ОНП можно использовать в качестве предикто-

ра дальнейшего прогрессирования фиброза, и, соответственно, для определения прогноза и принятия терапевтического решения у конкретного пациента. Несмотря на то, что эти данные указывают на наличие четкой генетической предрасположенности к развитию цирроза печени, реальный вклад этих ОНП в реализацию данной предрасположенности остается до конца не выясненным. Как альтернативный метод определения генетических факторов риска развития хронических заболеваний печени и ГЦК была предложена концепция роли укорочения теломер.

Теломеры и теломераза

Теломеры — это повторяющиеся участки ДНК (TTAGGG), связанные со специальными белковыми комплексами — шелтеринами и расположенные на концевых участках хромосом. Их функция заключается в стабилизации и защите концов хромосом от истощения в результате репликации и предотвращении ошибочного распознавания их в качестве двухцепочечных разрывов ДНК [5]. В каждой новой популяции клеток теломеры укорачиваются из-за неспособности ДНК-полимеразы полностью реплицировать 3'-конец хромосомы. Значительное укорочение теломер является сигналом для остановки пролиферации, что приводит к клеточному старению либо апоптозу. Для ограничения истощения теломер в популяции стволовых и некоторых соматических клетках экспрессируется теломераза, обратная транскриптаза, которая поддерживает стабильность длины теломер, наращивая последовательность ДНК и присоединяя ее к концу хромосомы [13]. Теломераза представляет собой фермент, состоящий из теломеразной обратной транскриптазы (*TERT*) и теломеразного РНК-компонента (*TERC*), который используется как матричная последовательность для синтеза новых теломерных повторов ДНК. При низкой теломеразной активности укорочение теломер неизбежно, что ограничивает пролиферативную продолжительность жизни человеческих клеток. Предметом активных дискуссий является вопрос о том, в какой степени на укорочение теломер оказывают влияние специфические патофизиологические изменения в процессе старения [2] и хронические заболевания, приводящие к более интенсивному делению клеток [6, 12, 13, 17]. Укорочение теломер может быть генетически предопределено в результате мутации генов, отвечающих за теломеразный комплекс, что приводит к унаследованной невозможности удлинять теломеры [11].

Теломеры и цирроз печени

В норме печень взрослого человека является митотически малоактивным органом с низким уровнем клеточного деления. Исследования, посвященные изучению изменения длины теломер в гепатоцитах с возрастом, выявили достаточно существенное укорочение их длины, сопоставимое с таковым теломер в клетках слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, митозы которых происходят гораздо чаще [21]. Эти данные позволяют предположить, что и другие факторы, отличные от количества цикла деления клеток, могут приводить к уменьшению длины теломер во время физиологического старения организма *in vivo*. Возможный механизм — воздействие свободных радикалов, известных своей способностью приводить к укорочению теломер *in vitro* [16]. Так, одна из главных причин хронических заболеваний печени — этанол — вызывает в гепатоцитах оксидантный стресс, повышая уровень свободных радикалов кислорода и азота и запуская перекисное окисление липидов, ДНК и белков [19].

В отличие от умеренного укорочения теломер в гепатоцитах вследствие процессов старения в исследованиях было доказано ускорение укорочения теломер при разных заболеваниях печени, в особенности при циррозе печени. Более того, укорочение теломер на разных стадиях цирроза коррелировало с прогрессированием процессов фиброобразования. Укорочение теломер при циррозе наблюдается исключительно в гепатоцитах, тогда как звездчатые клетки из участков фиброза имели относительно длинные теломеры. Эти данные коррелируют с экспрессией, связанной со старением клеток β-галактозидазы (*SA-Bgal*) — биомаркера репликативного старения [23]. В связи с этим была предложена концепция укорочения теломер в качестве генетического фактора риска развития цирроза. Суть концепции заключается в том, что состояния, приводящие к частому обновлению клеток, например, хроническое повреждение печени, ускоряют укорочение теломер, что вызывает нарушение пролиферации гепатоцитов, их старение и смерть, когда теломеры становятся критически короткими. При достижении гепатоцитами этапа репликативного клеточного старения регенерация печени уменьшается, однако хроническое повреждение печени продолжается. Это приводит к активации других типов клеток, например, звездчатых клеток печени, обычно не участвующих в восстановительном процессе, и образованию фиброзной рубцовой ткани в участках потери гепатоцитов. Эта модель дает правдоподоб-

ное объяснение длительному латентному протеканию цирроза, вызванного разными хроническими заболеваниями печени. Данные в поддержку теломерной гипотезы цирроза получены в исследованиях на мышинных линиях с дефицитом теломеразы (*mTERC*^{-/-}), позволивших определить нарушение печеночной регенерации и преждевременное начало цирроза у мышей с короткими теломерами [20]. Несколько исследований, посвященных поиску связи между циррозом и укорочением теломер, показали, что дефицит теломеразы является маркером цирроза, коррелирующим с накоплением стареющих гепатоцитов [23]. Т. Kitada и соавт. [17] продемонстрировали взаимосвязь между циррозом и укорочением теломер, отметив, что длина теломер в клетках ткани печени с циррозом была меньше, чем в клетках печени с хроническим гепатитом, и в обоих случаях короче, чем в клетках здоровой печени. Последующие исследования подтвердили, что укорочение длины теломер коррелирует с уровнем фиброза, что позволяет предположить роль длины теломер в развитии цирроза и использовать данный показатель в качестве нового прогностического маркера [1, 17, 22]. Восстановление теломеразной активности в гепатоцитах мышей *mTERC*^{-/-} приводило к уменьшению цирротических изменений и улучшало функционирование печени [20]. Эти факты доказывают, что снижение теломеразной активности само по себе может приводить к развитию цирроза.

Мутации в генах теломеразного комплекса причастны к редким заболеваниям человека, которые характеризуются ускоренным укорочением теломер и органной недостаточностью, например, к врожденному дискератозу [8]. Интересно, что у пациентов, страдающих данным заболеванием, чаще наблюдается патология печени, включая фиброз и цирроз. Группой исследователей обнаружена связь между криптогенным циррозом (КЦ), идиопатическим пульмональным фиброзом (ИПФ) и дисфункцией теломер вне комплекса проявлений врожденного дискератоза. Ими же описан случай 48-летней женщины с диагностированным КЦ, ИПФ и сахарным диабетом. КЦ и ИПФ быстро прогрессировали и через 18 мес пациентка умерла. Анализ генов *TERT* и *TERC* показал наличие гетерозиготной *TERT*-мутации (L153M), приводящей к нарушению синтеза праймерной РНК и теломерной ДНК [9]. Этот случай дает новые доказательства участия теломер в прогрессировании заболеваний печени и наводит на мысль о возможной связи между неалкогольным стеатогепатитом и

КЦ через укорочение теломер [10, 11]. В двух недавних исследованиях изучили частоту теломеразных мутаций у пациентов со спорадическим циррозом по сравнению со здоровыми лицами [7, 14]. Оба исследования включали скрининг на вариации в генах *TERT* и *TERC*. В первом исследовании R. Calado и соавт. [7] выявили миссенс-мутации в генах *TERT* и *TERC*. Частота мутаций гена *TERT* была значительно выше у больных циррозом, чем в контрольной группе. Цирроз был также связан с меньшей длиной теломер в лейкоцитах периферической крови. Большинство клеток с вариацией гена *TERT* показали сниженную активность теломеразы *in vitro*. Во втором исследовании D. Hartmann и соавт. [14] провели скрининг пациентов со спорадическим циррозом и контрольной группы для выявления теломеразных мутаций. Контрольная группа состояла из 473 здоровых лиц и 127 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С, у которых в течение длительного периода наблюдения не развивался цирроз. Анализ данных показал значительное увеличение частоты теломеразных мутаций в группе с циррозом по сравнению с контрольной группой. Мутации гена *TERT* у больных циррозом также были связаны со снижением активности теломеразы *in vitro* и с более короткими теломерами в лейкоцитах периферической крови по сравнению с пациентами без цирроза. Эти же авторы выявили увеличение частоты терминальных стадий заболеваний печени (детский цирроз на фоне вирусного гепатита В или С, ГЦК или показания к трансплантации печени) у больных циррозом и наличием теломеразных мутаций по сравнению с больными циррозом без них. Этот факт наводит на мысль о том, что теломеразные мутации могут ускорить прогрессирование заболеваний печени до развития цирроза в контексте хронического повреждения печени. Несмотря на разные варианты мутаций *TERT* в этих двух исследованиях можно предположить, что укорочение теломер играет важную роль в последовательности событий, приводящих к циррозу. Согласно этой гипотезе хроническое повреждение печени провоцирует регенерацию гепатоцитов и, следовательно, повышает частоту клеточных делений, ускоряет укорочение теломер и клеточное старение. Если повреждающее воздействие сохраняется, то звездчатые клетки печени активируются и это приводит к фиброзу (рисунок).

Результаты упомянутых исследований свидетельствуют о связи между теломеразными мутациями и прогрессированием хронических заболеваний печени, вероятно, благодаря снижению



Рисунок. **Возможная связь между укорочением теломер и развитием фиброза печени [9]**

активности теломеразы и, как следствие, нарушению в поддержании длины теломер. Поскольку распространенность теломеразных мутаций в общей популяции незначительна, они могут не быть главным фактором развития цирроза. Возможно, изучая только мутации теломеразных генов, существует риск недооценить ре-

альный вклад системы теломер в развитие цирроза. Установлена также важная роль других компонентов теломерного комплекса, таких как дискерин, протеин TIN-2 и другие теломерные белки, при реализации активности теломеразы. Возможно, анализ последовательности всех компонентов системы теломер выявит реальную роль мутаций теломерного комплекса в развитии цирроза печени.

Выводы

Укорочение теломер и теломеразная регуляция играют важную роль в регенерации тканей при старении, развитии хронических заболеваний, промоции и прогрессировании рака. При хронических заболеваниях печени способность гепатоцитов к регенерации ограничена из-за укорочения теломер, что приводит к истощению клеточной регенерации, развитию фиброза и цирроза. Исходя из роли теломеразы в данных процессах могут быть успешны новые терапевтические возможности, направленные на остановку клеточного старения и реактивации фермента. Необходимо провести дополнительные исследования для лучшего понимания роли теломер в развитии заболеваний человека и карциногенезе и определения потенциальных терапевтических возможностей.

Список литературы

1. Aikata H., Takaishi H., Kawakami Y. et al. Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation // *Exp. Cell. Res.* — 2000. — Vol. 256. — P. 578–582.
2. Allsopp R.C., Chang E., Kashfi-Azham M. et al. Telomere shortening is associated with cell division in vitro and in vivo // *Exp. Cell. Res.* — 1995. — Vol. 220. — P. 194–200.
3. Ball S.E., Gibson F.M., Rizzo S. et al. Progressive telomere shortening in aplastic anemia // *Blood.* — 1998. — Vol. 91. — P. 358–359.
4. Blachier M., Leleu H., Peck-Radosavljevic M. et al. The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data // *J. Hepatol.* — 2013. — Vol. 58, N 3. — P. 593–608.
5. Blackburn E.H. Switching and signaling at the telomere // *Cell.* — 2001. — Vol. 106. — P. 661–673.
6. Boultonwood J., Peniket A., Watkins F. et al. Telomere length shortening in chronic myelogenous leukemia is associated with reduced time to accelerated phase // *Blood.* — 2000. — Vol. 96. — P. 358–361.
7. Calado R.T., Brudno J., Mehta P. et al. Constitutional telomerase mutations are genetic risk factors for cirrhosis // *Hepatology.* — 2011. — Vol. 53. — P. 1600–1607.
8. Calado R.T., Young N.S. Telomere diseases // *N. Engl. J. Med.* — 2009. — Vol. 361. — P. 2353–2365.
9. Carulli L., Anzivino C. Telomere and telomerase in chronic liver disease and hepatocarcinoma // *World J. Gastroenterol.* — 2014. — Vol. 20, N 20. — P. 6287–6292.
10. Carulli L., Dei Cas A., Nascimbeni F. Synchronous cryptogenic liver cirrhosis and idiopathic pulmonary fibrosis: a clue to telomere involvement // *Hepatology.* — 2012. — Vol. 56. — P. 2001–2003.
11. Chaiteerakij R., Roberts L.R. Telomerase mutation: a genetic risk factor for cirrhosis // *Hepatology.* — 2011. — Vol. 53. — P. 1430–1432.
12. Effros R.B. Telomeres and HIV disease // *Microbes Infect.* — 2000. — Vol. 2. — P. 69–76.
13. Greider C.W., Blackburn E.H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts // *Cell.* — 1985. — Vol. 43. — P. 405–413.
14. Hartmann D., Srivastava U., Thaler M. et al. Telomerase gene mutations are associated with cirrhosis formation // *Hepatology.* — 2011. — Vol. 53. — P. 1608–1617.
15. Huang H., Shiffman M.L., Friedman S. et al. A 7 gene signature identifies the risk of developing cirrhosis in patients with chronic hepatitis // *Hepatology.* — 2007. — Vol. 46. — P. 297–306.
16. Kawanishi S., Oikawa S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2004. — Vol. 1019. — P. 278–84.
17. Kitada T., Seki S., Kawakita N. et al. Telomere shortening in chronic liver diseases // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1995. — Vol. 211. — P. 33–39.
18. Marcolongo M., Young B., Dal Pero F. et al. A seven-gene signature (cirrhosis risk score) predicts liver fibrosis progression in patients with initially mild chronic hepatitis // *Hepatology.* — 2009. — Vol. 50. — P. 1038–1044.

19. Muriel P. Role of free radicals in liver diseases // *Hepatol. Int.* — 2009. — Vol. 3, N 4. — P. 526—536.
20. Rudolph K.L., Chang S., Millard M. et al. Inhibition of experimental liver cirrhosis in mice by telomerase gene delivery // *Science.* — 2000. — Vol. 287. — P. 1253—1258.
21. Takubo K., Nakamura K., Izumiyama N. et al. Telomere shortening with aging in human liver // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* — 2000. — Vol. 55. — P. 533—536.
22. Urabe Y., Nouse K., Higashi T. et al. Telomere length in human liver diseases // *Liver.* — 1996. — Vol. 16. — P. 293—297.
23. Wiemann S.U., Satyanarayana A., Tsahuridu M. et al. Hepatocyte telomere shortening and senescence are general markers of human liver cirrhosis // *FASEB J.* — 2002. — Vol. 16. — P. 935—942.

В. Г. Передерій, А. К. Сизенко, Т. О. Потехіна

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

Укорочення теломер як генетичний чинник розвитку цирозу печінки

Значна варіабельність перебігу хронічних захворювань печінки у пацієнтів з однаковими зовнішніми чинниками ризику нашої думки про важливість генетичної схильності до розвитку цирозу печінки. Вивчення генетичних маркерів захворювань печінки не лише дає змогу краще зрозуміти патогенез, а й розширює прогностичні і в перспективі — терапевтичні можливості. Перспективною та активно досліджуваною є концепція вкорочення теломер, яку підтверджено в епідеміологічних та експериментальних дослідженнях. Укорочення теломер може бути наслідком підвищеної регенераторної мітотичної активності гепатоцитів, мутацій та епігенетичних змін активності генів теломеразного комплексу. Представлено дані про зв'язок теломеразних мутацій і вкорочення теломер із захворюваннями печінки.

Ключові слова: теломери, теломераза, оксидантний стрес, реплікативне клітинне старіння, цироз печінки.

V.G. Perederii, A.K. Syzenko, T.O. Potekhina

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

Telomere shortening as a genetic risk factor for the development of cirrhosis

Considerable variability of chronic liver diseases in patients with the same external risk factors suggests the idea of the significance of a genetic predisposition to the development of liver cirrhosis. The research of genetic markers of chronic liver diseases does not only allow a better understanding of the pathogenesis, but also expands our prognostic and therapeutic prospects. Among them the concept of Telomere shortening is being perspective and actively explored. Telomere shortening may appear due to increased activity of regenerative mitotic activity of hepatocytes, mutations and epigenetic changes in gene activity of telomerase complex. This article provides an overview of the literature on the connection of telomerase mutations and telomere shortening with liver diseases.

Key words: telomere, telomerase, oxidative stress, replicative senescence, liver cirrhosis.

Контактна інформація

Передерій В'ячеслав Григорович, д. мед. н., проф., зав. кафедри
01030, м. Київ, бульв. Т. Шевченка, 17

Стаття надійшла до редакції 20 жовтня 2015 р.