

УДК 616.36-085.244-06

Патогенетические механизмы лекарственных поражений печени

Н.М. Железнякова

*Харьковский государственный медицинский университет, Харьков***Ключевые слова:** печень, медикаментозные поражения, гомеостаз кальция, апоптоз

Диагностика и лечение лекарственных индуцированных поражений печени остается актуальной медицинской и социально-экономической проблемой, затрагивающей интересы не отдельных индивидуумов, а популяции в целом, что обуславливает важность её изучения.

Печень подвержена токсическому повреждению более чем любой другой орган. Это не удивительно, так как кровь портальной вены, которая дренирует впитывающую поверхность желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), поступает непосредственно в печень. Поэтому, печень подвергнута действию всех попавших внутрь субстанций, которые абсорбируются в портальную кровь. Токсическое повреждение печени - это самая частая преграда в процессе разработки новых лекарственных веществ фармацевтическими компаниями и - главная причина удаления препаратов с рынка [11,12,18].

В настоящее время выделяют две группы гепатотоксинов: так называемые «прогнозируемые», в общем, хорошо известные с доказанной гепатотоксичностью, и, так называемые «идиосинкразические», которые вызывают повреждение печени только в отдельных случаях. Некоторые идиосинкразические реакции могут быть объяснены необычным типом наследования или отсутствием генов, кодирующих энзимы, вовлеченные в лекарственный метаболизм [1,9]. Механизмы идиосинкразических лекарственных реакций, вероятно, вовле-

кают как представленные в работе (обсуждаются ниже), также и новые, еще не выявленные, патологические пути. Поэтому патогенез лекарственных поражений печени (ЛПП) по-прежнему вызывает интерес мировой научной общественности.

Повреждения печени могут быть классифицированы по целому ряду категорий. Некоторые из них основаны на гистологическом повреждении (воспаление, некроз, холестаз), другие - на виде поражения (цитотоксическое, холестатическое, смешанное). Но появление нового понимания, которое представляет повреждение на молекулярном уровне, дало начало более фокусированной схеме для классификации повреждения печени.

Описано 6 основных механизмов или пунктов патогенеза при химически индуцированном поражении печени, которые наиболее полно отображают патогенез ЛПП [3,5,6]: 1) нарушение гомеостаза кальция и повреждение клеточной мембраны; 2) повреждение желчных протоков; 3) метаболическая биоактивация химических веществ через систему цитохрома P450; 4) стимуляция иммунитета; 5) стимуляция апоптоза; 6) повреждение митохондрий.

Важно иметь в виду, что многие из этих механизмов могут играть ключевую роль в патологическом процессе и быть основным звеном, которое четко отделяет различные процессы, как например, некроз и апоптоз; однако в большинстве случаев эти гра-

ницы стерты. Например, данные недавних исследований показали, что ацетаминофен, классический пример химического вещества, которое продуцирует дозозависимый центральный некроз, также приводит к апоптозу гепатоцитов [4,7,8,10,18]. Рассмотрим отдельные механизмы лекарственных повреждений печени.

Нарушение гомеостаза кальция и повреждение мембраны клетки. В здоровой клетке свободный цитозольный кальций поддерживается в очень низкой концентрации по сравнению с уровнем экстрацеллюлярного. Большая часть интрацеллюлярного кальция изолирована в пределах для доплазматического ретикула или митохондрий. Целостность клеточных мембран, также как и интрацеллюлярный баланс ионов, поддерживаются различными энергопоглощающими процессами в том числе Ca^{2+} и Mg^{2+} -АТФазой [3,5]. Биоактивация определенных лекарственных препаратов системой цитохрома p450 может приводить к продуцированию реактивных промежуточных звеньев, которые могут связываться с различными клеточными протеинами, что ведет к генерализованной клеточной дисфункции. Лекарственно индуцированное повреждение клеточных протеинов, которые вовлечены в ионный баланс, может приводить к притоку кальция, который разрушает, среди прочих процессов, нормальную ассамблею актиновых нитей и продукцию АТФ. Происходящее в результате «рассеивание» цитоскелета ведет к набуханию мембран гепатоцитов и, если поражение мембраны

достаточно велико, к необратимому повреждению клетки и её лизису [5,6].

Повреждение желчных протоков. Холестаз может продуцироваться химическими веществами, которые повреждают структуру и функцию желчных канальцев. Более чем 30 лекарственных препаратов идентифицированы, как те, которые могут приводить к холестазу. Ключевой компонент секреции желчи вовлекает серию АТФ-зависимых выводящих насосов, как например, протоковый переносчик солей желчных кислот, или переносчики, которые экспортируют другие составляющие желчи от цитоплазмы гепатоцитов в протоковое пространство. Некоторые лекарства связывают молекулы протокового транспорта и приводят к задержке образования или движения желчи в пределах протоковой системы [17]. В редких случаях у отдельных индивидуумов (0,1%), развивается прогрессивное разрушение холангиоцитов, которое ведет к "синдрому исчезновения желчного протока" [12]. Необходимо дополнительные исследования, чтобы пролить свет на механизмы разрушения клеток билиарного тракта. Вторичное их повреждение может возникнуть из-за детергентных свойств солей желчных кислот, которые повреждают клеточные мембраны и билиарный эпителий или гепатоциты в областях холестаза [12,17].

Другой механизм, ведущий к холестазу, обусловлен разрушением актиновых нитей, расположенных вокруг билиарных канальцев, что препятствует нормальному пульсирующему сокращению и перемещению желчи к желчным протокам [17]. Этот вид повреждения могут вызывать препараты, которые связываются с актиновыми нитями и те, что нарушают гомеостаз кальция и продукцию клеточной энергии.

Метаболическая биоактивация энзимами системы цитохрома P450 - самый частый механизм гепатоцеллюлярного повреждения; он обусловлен продукцией токсических метаболитов системой цитохрома P450. Эта группа энзимов расположена, прежде всего, в гладком эндоплазматическом ретикулеуме гепатоцитов, хотя они также присутствуют во многих других клетках организма. Главная роль энзимов цитохрома P450 - метаболизм жирорастворимых химических веществ в водорастворимые составляющие для выделения из организма с желчью или мочой. В первой стадии

этого 2-х ступенчатого процесса биотрансформации, названной фаза 1, химическое вещество биоактивируется в высокореактивную промежуточную молекулу энергии, в качестве подготовки ко второму шагу (фазе 2), которая представляет собой образование ковалентных связей с полярными молекулами, как например глюкуроновая кислота. Соединение образует растворимый в воде метаболит, который может быть выделен [5,6,9,13]. Однако, при некоторых обстоятельствах, как например передозировка, высокая энергия реактивных метаболитов могут формироваться, так называемые, дополнительные «продукты присоединения» - аддукты, которые связываются ковалентными связями с другими клеточными составляющими, как например протеины и нуклеиновые кислоты. При остром токсическом повреждении, аддукты могут связываться с эссенциальными клеточными энзимами, что ведет к повреждению клетки или её гибели. Местоположение токсического клеточного повреждения в пределах печеночного ацинуса отображает местоположение биоактивации химического вещества [9,11,14]. Например, тетрахлорид углерода (CCl₄) метаболизируется системой цитохрома P450 до CCl₃, свободного радикала, который индуцирует повреждение мембраны клетки. Повреждения, индуцируемые тетрахлоридом углерода, наиболее тяжелы в периацинарных (центролобулярных) областях, где гладкий эндоплазматический ретикулум представлен более всего, и, таким образом, здесь активная форма химического вещества присутствует в самой большой концентрации. Поэтому, центролобулярная область печеночной дольки - это, безусловно, самое характерное местоположение острого токсического повреждения. Токсическое поражение ацетаминофеном - это другой и наиболее часто встречающийся пример данного механизма повреждения печени [8,10,18].

Аддукты могут также формироваться между биоактивированными составляющими и нуклеиновыми кислотами. Аддукты, сформированные с ДНК, вероятней всего приведут к отделенным последствиям, как например неоплазия, но аддукты, сформированные с РНК, могут нарушать синтез белка и приводить к острому токсическому поражению печени.

Стимуляция иммунитета. В дополнение к прямому повреждению кле-

точных белков и нуклеиновых кислот, образование аддуктов может приводить к иммунопосредованному повреждению печени. Это может происходить, когда аддукты формируются между метаболитами лекарственного препарата и клеточными белками или нуклеиновыми кислотами и образуют неоантигены. Они могут формироваться на поверхности клетки при взаимодействии химического вещества с определенными рецепторами клеточной мембраны или в других местах, транспортироваться к поверхности клетки и выступать в качестве антигена [2,3,12]. В зависимости от контекста представленного антигена в процесс может вовлекаться, как клеточный, так и гуморальный иммунитет. Цитотоксическое повреждение может происходить как напрямую, так и быть опосредованным антителами. Повреждение печеночной ткани может существенно усугубляться при накоплении в ней воспалительных клеток, как например нейтрофилов, и активации синусоидальных клеток, особенно клеток Купфера [7,10].

Стимуляция апоптоза. Апоптоз - это форма гибели клетки, характеризующаяся организованной ядерной и клеточной фрагментацией. В течение апоптоза интактные клеточные органеллы и мембраны клеток фрагментируются на маленькие связанные мембраной тела. Классический апоптоз может быть запущен в гепатоците двумя основными механизмами [4,8,15]:

1) взаимодействие между ассоциированными с фибробластами лигандами (Fas-ligand, TNF) и рецепторами смерти (Fas и TNFR-1), которые запускают активацию каспазы 8 (каспазы - семейство эволюционно консервативных цистеиновых протеаз, которые специфически активируются в апоптотических клетках и играют ключевую роль в механизмах программируемой смерти клетки);

2) повреждение внутренних мембран митохондрий, высвобождающих цитохром C, который связывается с цитоплазматическим белком - фактором активации протеаз Araf-1 (apoptotic protease activating factor 1), что ведет к активации каспазы 9.

Эти пути не разделены полностью, так как проапоптотический протеин Bid, который активируется каспазой 8, может привести к высвобождению цитохрома C из митохондрий. Определенное химическое вещество, воз-

можно, может запустить апоптоз прямой стимуляцией проапоптотических путей в гепатоцитах. Однако, β -окисление липидов и продукцию апоптоз может стимулироваться некоторыми другими путями, включая иммуноопосредованные события, как например обсуждаемые выше, выработка ФНО- α или активация пути Fas. Химические вещества могут также повреждать митохондрии путем стимуляции апоптоза посредством выработки цитохрома С [16]. Холестаз может стимулировать апоптоз действием проапоптотических желчных кислот, как например гликодеоксихолевая кислота (ГДХК) [15,16]. Гидрофобные желчные кислоты, функционируют через механизм не-Fas рецепторов. Данный механизм вовлекает индуцируемый гидрофобными желчными кислотами, микротубулярно зависимый увеличенный транспорт Fas-содержащих цитоплазматических пузырьков к мембране клетки, где происходит самопроизвольная олигомеризация и предсмертная активация области [16]. Этот вид токсикоопосредованного транспорта рецепторов смерти представляет новую форму повреждения гепатоцитов.

Дополнительные пути, возможно, включают в себя запуск апоптоза активацией протеина киназы С и повреждением митохондрий. Кроме того, биоактивация системой цитохрома P450 может производить реактивные молекулы, провоцирующие оксидативный стресс; последний может быть стимулом индукции синтеза Fas-лиганд и увеличению восприимчивости гепатоцитов к апоптозу.

Повреждение митохондрий. Химические вещества, которые поврежда-

ют структуру митохондрий, синтез ферментов или ДНК могут разрушать оксидативной энергии в гепатоцитах. Длительный перерыв β -окисления приводит к микровезикулярному стеатозу в гепатоцитах; умеренное его нарушение - к макровезикулярному стеатозу. В тяжелых случаях последовательно может развиваться микровезикулярный стеатоз, печеночная недостаточность и летальный исход [6,9,11]. Некоторые лекарственные препараты могут препятствовать β -окислению (аспирин, тетрациклин и др.), другие могут разрушать фосфорилирование сами или в комбинациях (амирдарон с желчными кислотами), что истощает энергию гепатоцитов. Определенные противовирусные препараты могут разрушать митохондриальный синтез ДНК путем ингибирования ДНК-полимеразы. В результате происходит истощение митохондриальной ДНК и митохондрий, что приводит к смерти гепатоцитов [5,11].

В заключении, следует отметить, что печень - это не только гепатоциты. Повреждение печени может происходить при поражении других типов клеток: билиарный эпителий, клетки Купфера, эндотелиальные и звездчатые клетки также могут «страдать» при токсическом поражении и содействовать повреждению печени с развитием фиброза.

Литература

1. Andrade RJ, Camargo R, Lucena MI, Gonzalez-Grande R. Causality assessment in drug-induced hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Saf.* 2004;3:329-44.
2. Apte, U. M., Limaye, P. B., Ramaiah, S. K., Vaidya, V. S., Buaci, T. J., Warbritton, A., and Mebendale, H. M. Upregulated proinflammatory signaling via cytokines and

growth factors: potential mechanism of robust liver tissue repair in calorie-restricted rats upon toxic challenge. *Toxicol Sci* (2002), 69: 448-59

3. Bissel, D. M., Gores, G. J., Laskin, D. L., and Hoofnagle, J. H. Drug-induced liver injury: mechanisms and test systems. *Hepatology* (2001), 39: 1009-13.

4. Gardner, C. R., Laskin, J. D., Dambach, D. M., Chin, H., Durham, S. K., Zhou, P., Bruno, M., Gerecke, D. R., Gordon, M. K., and Laskin, D. L. Exaggerated hepatotoxicity of acetaminophen in mice lacking tumor necrosis factor receptor-1. Potential role of inflammatory mediators. *Toxicol Appl Pharmacol* (2003), 192:119-30

5. Jaeschke, H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* (2000), 15: 718-24.

6. Jaeschke, H., Gores, G. J., Cederbaum, A. I., Hinson, J. A., Pessayre, D., and Lemasters, J. J. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* (2002), 65: 166-76.

7. Ju, C., Reilly, T. P., Bourdi, M., Radonovich, M. F., Brady, J. N., George, J. W., and Pohl, L. R. Protective role of Kupffer cells in acetaminophen-induced hepatic injury in mice. *Chem Res Toxicol* (2002), 15: 1504-13

8. Kass, G. E., Macanas-Pirard, P., Lee, P. C., and Hinton, R. H. The role of apoptosis in acetaminophen-induced injury. *Ann NY Acad Sci* (2003), 1010: 557-9

9. Larrey D, Pageaux GP. Drug-induced acute liver failure. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005;

10. Lawson, J. A., Furhood, A., Gopper, R. D., Bajt, M. L., and Jaeschke, H. The hepatic inflammatory response after acetaminophen overdose: role of neutrophils. *Toxicol Sci* (2002), 54: 509-16

11. Lee, W. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* (2003), 349: 474-85

12. Lewis, J. H. Drug-induced liver disease. *Med Clin North Am* (2000), 84: 1275-1311

13. Luster, M. I., Simeonova, P. P., Gallucci, R. M., Brucoleri, A., Blazka, M. E., and Yucsoy, B. Role of inflammation in chemical-induced hepatotoxicity. *Toxicol Lett* (2001), 120: 317-21

14. Maddrey WC. Drug-induced hepatotoxicity: 2005. *J Clin Gastroenterol.* 2005;39:S83-9.

15. Rust, C., and Gores, G. J. Apoptosis and liver disease. *Am J Med* (2000), 108: 567-74.

16. Soderman, T., Bronk, S. F., Roberts, P. J., Miyoshi, H., and Gores, G. J. Bile salts mediate hepatocyte apoptosis by increasing cell surface trafficking of Fas. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (2000), 278: G992-9.

17. Trauner, M., Meier, P. J., and Boyer, J. L. Mechanisms of Disease Epstein, F. H., Ed., (1998), 339: 1217-27 Molecular pathogenesis of cholestasis. *N Engl J Med.*

18. Zhang, J., Huang, W., Chua, S. S., Wei, P., and Moore, D. D. Modulation of acetaminophen-induced hepatotoxicity by the xenobiotic receptor CAR. *Science* (2002), 298: 422-24

Патогенетичні механізми медикаментозних уражень печінки

Н.М. Железнякова

У статті детально розглянуті основні патогенетичні механізми медикаментозних уражень печінки: порушення гомеостазу кальцію і пошкодження клітинної мембрани, пошкодження жовчних проток, метаболічна біоактивація хімічних речовин через систему цитохрому P450, стимуляція імунітету, стимуляція апоптозу, пошкодження митохондрий.

Pathogenetic mechanisms of drug liver injury

N.M. Zheleznyakova

In the article the basic pathogenetic mechanisms of drug liver injury are considered in detail: disruption of calcium homeostasis and damage of cellular membrane, canalicular injury, metabolic bioactivation of chemicals via cytochrome P450 system, stimulation of autoimmunity, stimulation of apoptosis, mitochondrial injury