БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ КСЕНОБИОТИКОВ

Из миллионов известных химических веществ более 63 тысяч находятся в широком использовании, а около 55 тысяч соединений, в том числе и лекарства, представляют опасность для человека и животных. Ежегодно более 1 млн человек страдает от побочных эффектов фармакотерапии и около 180 тысяч умирают от них, экономический ущерб составляет более 136 млрд долларов в год [Holland E.G., Degruy F.V., 1997 (-1)]. Однако большинство побочных эффектов дозо-зависимы и вполне предсказуемы.

Многие ксенобиотики способны вызывать поражение печени. Так, в США у 2–5% больных, госпитализированных по поводу желтухи, впоследствии выявляется лекарственное поражение печени, а от 15 до 30% случаев фульминантной печеночной недостаточности и около 40% случаев острого гепатита у лиц старше 50 лет связано с приемом лекарств [Lewis J.H, 1999; Bass N.M, Ockner B.A.., 1996 (2,3)]. Распространенность лекарственных поражений печени неодинакова в разных странах и зависит от структуры употребления лекарств. В России острые медикаментозные поражения печени выявляются у 2,7% госпитализированных больных и на первом месте находятся противотуберкулезные препараты, затем антибактериальные, нестероидные противовоспалительные, гормональные, цитостатические, гипотензивные, антиаритмические средства [Т.Е. Полунина, 1999, (4)]. В Англии первое место в этиологии фульминантной печеночной недостаточности занимает передозировка парацетамола, оттесняя на второй план острые вирусные гепатиты [J.H. Plevris et al.,1998(5)]. В США ежегодно острые отравления парацетамолом, требующие госпитализации, регистрируются с частотой 29 на 100000 населения, в Израиле – 57, в Великобритании – 200 [F.V. Schiodt et al., 1997; G.R. Bond, L.K. Hite, 1999 (6, 7)]. При этом в 18-30% случаев токсичность парацетамола была связана с его приемом в терапевтических целях, в остальных случаях - с суицидальными попытками.

К сожалению, большинство токсических поражений печени протекает скрыто, клинически их трудно отличить от других заболеваний печени. Если лекарственное поражение печени вовремя не диагностировано и прием лекарств продолжается, тяжесть поражения многократно возрастает [Sturgill M.G., Lambert G.H., 1997 (8)]. Общая смертность при медикаментозном поражении печени составляет около 5% [Werth B, et al., 1993 (9)]. При отравлениях парацетамолом даже в относительно невысоких дозах (в среднем 4-12 г) смертность может достигать 19% [F.V. Schiodt et al., 1997 (6)].

Печень является главным органом метаболизма ксенобиотиков и подвержена их токсическому влиянию. Функциональной единицей печени является ацинус, состоящий из трех концентрических зон гепатоцитов, расположеных вокруг портальной триады (терминальная ветвь воротной вены, печеночная артериола и желчный проток). Гепатоциты 1 зоны, наиболее близкие к портальной триаде, более устойчивы к повреждению. Гепатоциты зоны 3, наиболее отдаленные от портальной триады, получают меньшие количества питательных веществ и особенно восприимчивы к ишемическому, токсическому и вирусному повреждению.

Процессы первой фазы метаболизма ксенобиотиков преимущественно катализируются микросомальной монооксигеназной системой, основной компонент которой, - цитохром Р450, определяет функционирование всей системи метаболизма ксенобиотиков [Н.В. Адрианов, В.Ю. Уваров, 1988; Lewis, Lake, 1998]. Цитохром Р450 представлен набором белков, близких по строению, но разных по субстратной специфичности. Сегодня идентифицировано более 100 семейств цитохрома Р450 [Lewis, Lake, 1998; Omiecinski C.J. et al., 1999]. Многие ксенобиотики, первично нетоксичные для печени, способны превращаться в токсические метаболиты [Арчаков А.И., Карузина И.И. 1988, Hinson J.A; Forkert P.G., 1995 Chen, Cederbaum,1998; Omiecinski C.J. et al., 1999]. Благодаря реакциям второй фазы происходит конъюгация образованных метаболитов с глюкуроновой, серной, уксусной кислотой и глутатионом, что приводит к повышению их водорастворимости и облегчает выведения почками. Конъюгирование метаболитов предотвращает дальнейшее повреждение печени, так как большинство конъюгатов являются биологически инертными веществами [Hinson J.A.; Forkert P.G., 1995; Lee W.M., 1995].

**Общая характеристика токсических повреждений печени**. Существует два основных типа повреждения печени ксенобиотиками [Lee W.M., 1995; Sturgill M.G., Lambert G.H., 1997; F. Longo и соавт., 1998; Tanaka E., 1998]. «Предсказуемая» гепатотоксичность ксенобиотиков характеризуется дозо-зависимым образованием токсических метаболитов и зависимым от дозы масштабом повреждения гепатоцитов. Токсическое действие таких веществ возникает вследствие их приема в дозе, превышающей емкость систем биотрансформации (передозировка лекарств, дефицит субстратов конъюгации, коферментов и ферментов, необходимых для детоксикации) или влияния индукторов и ингибиторов метаболизирующих ферментов. Дозозависимое поражение печени способны вызывать тетрахлорметан, парацетамол, аспирин, тетрациклины, гризеофульвин, никотиновая кислота и ее производные, амиодарон, эстрогены, анаболические гормоны, меркаптопурин, метотрексат, полусинтетические пенициллины и цитостатические антибиотики и ряд других веществ.

Другие препараты, такие как эритромицин, изониазид, галотан, хлорпромазин, дают токсический эффект лишь у некоторых чувствительных лиц и независимо от дозы. Такую гепатотоксическую реакцию относят к проявлениям идиосинкразии [Е.В. Арзамасцев, Б.И. Любимов, 1995; D. Larrey, G.P. Pageaux, 1997]. Причинами идиосинкразии на лекарство могут быть генетические различия в активности метаболизирующих ферментов, наличие генетических дефектов в защитных механизмах, что увеличивает экспозицию к токсическим метаболитам, продуктам конъюгации метаболитов с белками и другими макромолекулами [D. Pessayre, D. Larrey, 1988, C.R. Wolf, G. Smith, R.L. Smith, 2000; Lazarou J. et al., 1998; Wormhoudt L.W. et al., 1999].

Например, у лиц с генетически низким уровнем изофермента СYP2D6, препараты типа дебризохина, пергекселина, пропранолола, хинидина, дезипрамина, гидроксилируемые этим ферментом, имеют очень длительный период полувыведения, а, следовательно, и высокую вероятность токсических проявлений [W.M. Lee, 1995; D. Larrey, G.P. Pageaux, 1997 Wynn R.L., Meiller T.F.., 1998]. Дефицит изоферментов М1 и Т1 глутатион-S-трансферазы повышает гепатотоксичность такрина у больных с болезнью Альцгеймера [Simon T, et al., 2000].

Повреждения печени ксенобиотиками весьма многообразны и могут быть острыми и хроническими. Острое повреждение печени классифицируют как цитотоксическое, холестатическое и смешанное. Хроническое поражение печени проявляется хроническим активным гепатитом, стеатозом, фосфолипидозом, вено-окклюзивной болезнью, циррозом печени, пелиозным гепатитом и другими состояниями [Lewis JH, Zimmerman HJ, 1989, Zimmerman HJ, 1993; Lammert F, Matern S., 1997].

Гистологическая классификация токсических повреждений печени ксенобиотиками приведена в табл. 1.

Таблица 1

Гистологическая характеристика некоторых типов токсического повреждения печени ксенобиотиками [Sturgill MG, Lambert GH, 1997].

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Характеристика повреждения  | Возможный механизм повреждения | Представители ксенобиотиков |
| Зональный некроз | Образование клеточных аддуктов, свободных радикалов, неоантигенов | Ацетаминофен, галотан  |
| Токсический гепатит | Образование гаптенов | Изониазид,фенитоин, сульфаниламиды  |
| Mикровезикулярный стеатоз | Дефицит ß-окисления жирных кислот | Тетрациклин, вальпроевая кислота, тамоксифен  |
| Макровезикулярный стеатоз | Повышение синтеза триглицеридов и снижение их выхода из клетки | Хроническое употребление этанола  |
| Фосфолипидоз | Образование лизосомальных включений | Амиодарон |
| Гепатоканаликулярный холестаз | Воспаление, повреждение билиарных канальцев | Хлорпромазин |
| Каналикулярный холестаз | Уменьшение текучести мембран, активности Na+/K+-ATФазы | Стероидные гормоны |
| Вено-окклюзивные заболевания | Тромбозы терминальных печеночных венул | Радиация, азатиоприн, 6-тиогуанин  |
| Пелиозный гепатит | Повреждение синусоидальных мембран | Стероидные гормоны, тамоксифен  |
| Опухоль печени | Неизвестен | Стероидные гормоны  |

Более детальная классификация повреждений печени ксенобиотиками на основе клинических, гистологических и биохимических данных представлена в таблице 2, основанной на работах Farrell [1994, 1997].

Таблица 2

Классификация лекарственных поражений печени по Farrell [1994,

1997]

|  |
| --- |
| Нарушение функции печени |
| Индукция ферментов | Фенитоин, варфарин |
| Гипербилирубинемия | Новобиоцин,рифампицин |
| Острый некроз гепатоцитов |
| Фокальный некроз | Изониазид, клоксациллин, галотан |
| Мостовидный некроз | Изониазид, альфаметилдофа, фосфор |
| Зональный некроз | Парацетамол, галотан, фосфор |
| Массивный некроз | Галотан, вальпроевая кислота, НПВС |
| Жировая печень |
| Острые жировые изменения | Тетрациклин, вальпроевая кислота, НПВС, кортикостероиды, аспарагиназа |
| Стеатогепатит | Пергексилин малеат, амиодарон |
| Острый холестатический тип |
| Без гепатита | Стероиды, анаболические андрогены |
| С гепатитом | Хлорпромазин, эритромицин, флуклоксациллин |
| С повреждением желчных путей | Хлорпромазин, флюклоксациллин, 4,4'-диаминодифенилметан |
| Холестатический тип |
| Синдром исчезновения желчных протоков | Хлорпромазин, флюклоксациллин, амитриптилин  |
| Склерозирующий холангит |  5-фтордезоксиуридин |
| Хроническое паренхиматозное повреждение |
| Хроничекий активный гепатит | Альфа-метилдофа, нитрофурантоин, дантролен |
| Фиброз или некроз | Метотрексат, гипервитаминоз А |
| Сосудистые изменения  |
| Расширение синусоидов | Стероиды |
| Пелиозный гепатит | Анаболические андрогены |
| Нецирротическая портальная гипертензия | Винилхлорид, гипервитаминоз А, азатиоприн |
| Обструкция венозного оттока из печени | 6-тиогуанин, ГКС, пирролизидиновые алкалоиды |
| Узловая регенеративная гиперплазия | Азатиоприн, актиномицин Д |
| Другие сосудистые повреждения | Стероиды |
| Опухоли печени |
| Гемангиома | Стероиды |
| Фокальная узловая гиперплазия | Стероиды |
| Аденома печени | Стероиды |
| Гепатоцеллюлярная карцинома | Стероиды |
| Гепатобластома, холангиосаркома, карциносаркома | Стероиды |
| Гемоангиосаркома | Винилхлорид, диоксид тория, мышьяк |

**Нарушение функции печени**. Этот тип влияния ксенобиотиков на печень проявляется индукцией метаболизирующих ферментов [Pelkonen O., et al.. 1998]. Способность к индукции имеют барбитураты, антиконвульсанты, анальгетики, психотропные средства, антибиотики, протигрибковые препараты, гиполипидемические и антигистаминные препараты, стероиды, синтетические антиоксиданты, витамины и другие препараты. Хотя индукция метаболизирующих ферментов направлена на быстрейшее удаление чужеродного соединения из организма, длительное повышение активности ферментов нарушает обмен стероидных гормонов, витаминов (особенно ретинола и холекальциферола). Стимулирование синтеза гема может провоцировать гипербилирубинемию [Farell, 1994] и развитие порфирии [Bloomer J.R., 1998; M.F.M. James and R.J. Hift, 2000].

**Некроз и апоптоз гепатоцитов**. Имеется два механизма гибели гепатоцитов – некроз и апоптоз [B.A. Jones, G.J. Gores, 1997; А.А. Фильченков, Р.С. Стойка, 1999; Kaplowitz N., 2000]. Основными этапами некроза является набухание клетки, потеря внутриклеточных компонентов, дезинтеграция ядра с последующим фагоцитозом погибших гепатоцитов воспалительными клетками. Некроз обычно начинается с повреждения плазматической мембраны, что приводит к нарушению ионного гомеостаза, набуханию всей клетки и митохондрий. In vivo некротическая смерть клетки сопровождается существенными повреждениями тканей и развитием активного воспалительного процесса. Непосредственной причиной некроза является окислительный стресс и пероксидация липидов, связывание токсических метаболитов ксенобиотиков с биологически важными макромолекулами; повреждение митохондрий и нарушение продукции энергии; разрушение цитоскелета, массивный выход кальция и другие факторы [Kaplowitz N., 2000].

Апоптоз представляет собой генетически запрограммированную смерть клеток, при котором клетка сама активно способствует своей гибели [А.А. Фильченков, Р.С. Стойка, 1999; Kaplowitz N., 2000]. Этот процесс запускается через специальные рецепторы смерти на поверхности клетки или нерецепторным путем и ведет к активации ферментативных каскадов и ряда регуляторных белков, которые останавливают митотическую активность клетки (белок р53), вызывают фрагментацию ДНК (эндонуклеазы), деградацию белков (каскад протеолитических ферментов со специфичностью к определенным белкам), нарушают связь клетки с внеклеточным матриксом и т.д. Одним из ранних проявлений апоптоза является снижение величины электрохимического потенциала митохондриальной мембраны и повышение продукции активных форм кислорода. Морфологически апоптоз характеризуется образованием мембранных пузырей, агрегацией хроматина вблизи ядерной мембраны, конденсацией (сжатием клетки), фрагментацией клетки с образованием апоптических телец и последующим их фагоцитозом. В отличие от некроза при апоптозе не возникает выраженной воспалительной реакции.

Традиционно считается, что некроз инициируется нефизиологическими агентами, а апоптоз преимущественно физиологическими. Однако, исследования последних лет показали, что различия между апоптической и некротической смертью клетки не столь очевидны, как это представлялось ранее, и одни и те же факторы могут стимулировать оба процесса, как это доказано в отношении активных форм кислорода и оксида азота [Kaplowitz N., 2000; Jones B.E. et al., 2000; Lemasters J.J. et al., 2000]. Гепатотоксины способны вызывать гибель клеток как по механизмам некроза, так и апоптоза [O'Brien T. et al., 2000; Lemasters J.J. et al., 2000]. Оба механизма лежат в основе токсического действия парацетамола, тетрахлорметана и других гепатотоксинов, а соотношение между ними определяется дозой гепатотоксина, применением протекторов и другими факторами [Ray S.D., Mumaw V.R. et al., 1996; Ray S.D. et al., 1999; Horn T.L. et al., 2000; Ray S.D., Jena N., 2000].

Каким образом ксенобиотики включают механизмы апоптоза предстоит еще выяснить. Возможно, что решающее значение принадлежит рецептор-независимому механизму, который запускается неспецифическими факторами – оксидом азота, активными формами кислорода и т.д., молекулами способными повреждать клеточные макромолекулы и без апоптоза [Kazzaz J.A. et al., 1996]. Важная роль оксида азота подтверждается не только увеличением его образования после введения гепатотоксинов [Gardner et al., 1998], но и протекторной активностью ингибитора синтетазы оксида азота аминогуанидина при повреждении печени тетрахлорметаном [Al-Shabanah O.A. et al., 2000], парацетамолом [Gardner et al., 1998]. Сам по себе оксид азота, в особенности после взаимодействия с супероксидным радикалом и превращения в пероксинитрит, является реакционноспособным соединением и его неконтролируемое увеличение оказывает мощное повреждающее действие на биологические структуры, вызывая их нитрозилирование и иницируя апоптоз [Eu J.P. et al., 2000; Murphy M.P., 1999; Lopez-Garcia M.P., Sanz-Gonzalez S.M., 2000].

Иниицируют апоптоз и активные формы кислорода [Anderson K.M., Seed T., Ou D., Harris J.E., 1999]. Так, предполагается [Sakurai K., Cederbaum AI., 1998], что способность этанола вызывать апоптоз клеток HepG2 связана с окислительным стрессом.

Активные формы кислорода могут появляться как побочный продукт каталитического цикла реакций, катализируемых цитохромом Р450, синтетазой оксида азота, NADPH-редуктазой, диафоразой и другими ферментами, либо вследствие участия семихинонных метаболитов ксенобиотиков в реакциях одноэлектронного переноса с кислородом [Farber J.L. et al., 1998; Coon M.J. et al., 1998; Goasduff T, Cederbaum A.I., 1999; Garner A.P. et al., 1999; Beall H.D., Winski S.I., 2000], либо вследствие активации макрофагов, которые являются мощными продуцентами свободнорадикальных форм кислорода [S.L. Michael1 et al., 1999; Lawson J.A. et al., 2000].

Еще один механизм токсического действия ксенобиотиков связан с образованием реакционноспособных метаболитов. Многие ферментные системы способны превращать молекулу токсина в активные ацетилирующие, алкилирующие или арилирующие метаболиты, которые ковалентно связывается с критическими для гепатоцита макромолекулами [N.R. Pumford, N.C. Halmes., 1997; Rombach E.M., Hanzlik R.P., 1999; J.A. Hinson, et al., 2000]. Так, цитохром P450-зависимое окисление ксенобиотиков типа бромбензола или парацетамола ведет к образованию электрофильных интермедиатов, способных образовывать ковалентные аддукты с тиол-содержащими мембранными белками, которые регулируют гомеостаз кальция. Возрастание содержания внутриклеточного кальция может стать причиной гибели клеток.

В зависимости от дозы ксенобиотика и степени повреждения, некроз гепатоцитов может проявляться от бессимптомного повышения трансаминаз до печеночной недостаточности. Наиболее известным примером является дозозависимый некроз печени, вызванный парацетамолом. Метаболизм препарата включает его окисление цитохромами Р4502Е1, 1А2 и 3А, глюкуронирование и(или) сульфатацию и коньюгацию с глутатионом электрофильного интермедиата - N-ацетил-p-бензохинонимина [Nelson S.D.,1995; Pirmohamed M., Madden S., Park B.K., 1996]. В норме активность глюкуронил- и сульфотрансфераз достаточно высока и только небольшая часть парацетамола метаболизируется цитохромом P450. Если количество препарата превышает емкость этих ферментов, реакционноспособный метаболит N-ацетил-p-бензохинонимин ковалентно связывается с макромолекулами клетки, нарушает митохондриальную и ядерную функции [C.A. Lee et al., 1991; S. Jaw, E.H. Jeffery, 1993; J.F. Snawder et al., 1994; S.S. Lee et al., 1996; Sinclair J., et al., 1998]. Коньюгация с глутатионом способствует превращению его в меркаптуровую кислоту - нетоксический водорастворимый метаболит, экскретируемый почками. В случае передозировки парацетамола или повышенной чувствительности у отдельных лиц (обусловленной индукцией цитохрома P-450, истощением восстановленного глутатиона, ослаблением глюкуронирования и сульфатации), системы детоксикации исчерпываются и образующийся метаболит арилирует нуклеофильные макромолекулы, вызывая некроз печени [H.J. Zimmerman, W.C. Maddrey, 1995; L. Zhou et al., 1996; A.M. Matthews et al., 1997 Cohen S.D., Khairallah E.A., 1997]. Еще один путь реализации токсического действия парацетамола состоит в активации образования активных форм кислорода и оксида азота.

Кроме цитохрома Р450, другиефферменты также способны генерировть гепатотоксические метаболиты. В частности алкогольдегидрогеназа, катализирует окисление аллилового спирта в токсический метаболит – ненасыщенный альдегид акролеин, который вызывает окислительный стресс, вызывая истощение восстановленного глутатиона и блокируя сульфгидрильные группы белков [Miccadei S., Nakae D., Kyle M.E., Gilfor D., Farber J.L.,1988; Rikans L.E., Cai Y, Hornbrook K.R., 1994]

Токсические метаболиты образуются не только в процессе окислительных превращений ксенобиотиков, но и в реакциях конъюгации. К гепато- и нефротоксическим метаболитам, образующимся в этих реакциях относятся ацилглюкурониды многих нестероидных противовоспалительных препаратов. Так, например, ацилглюкуронид дифлунизала легко вступает в реакцию трансацилирования и ковалентно связывается с белками печени с образованием аддукта типа белок-лекарство [Wang M., Dickinson R.G., 1998].

Примером комбинированной токсико-аллергической реакции является галотановая гепатотоксичность. Восстановительное дегалогенирование галотана в печени идет в анаэробных условиях с образованием 2-хлор-1,1-дифторэтилена и 2-хлор-1,1,1-трифторэтана. В этом процессе принимают участие цитохромы Р4502В1, 2Е1 и 3А2, что показано в реконструированных системах [Chow et al., 1996; Ferrara et al., 1997]. Путь восстановительного дегалогенирования сопряжен с образованием свободно-радикальных (неспаренный электрон) или карбеновых (2 неспаренных электрона) интермедиатов, оказывающих прямое цитотоксическое действие или опосредованное, через активацию образования активных форм кислорода и перекисного окисления липидов, действие. Окислительный метаболизм галотана, происходящей при участии цитохрома Р4502Е1 и других монооксигеназ, ведет к образованию трифторацетилхлорида – высокоактивного соединения, которое образует аддукты с микросомальными белками печени и инициирует перекисное окисление липидов [J.G. Kenna, 1997; F. Hasan, 1998; Kharasch E.D. et al., 2000]. Именно прямой гепатотоксичностью галотана обьясняют факт повышения уровня трансаминаз у 1/3-1/5 пациентов сразу после галотановой анестезии.

Однако иногда развивается тяжелый гепатит, связанный с образованием неоантигенов, которыми являются трифторацетилированные белки эндоплазматического ретикулума, включая и сами ферменты, катализирующие метаболизм галотана [J.Feher et al., 1993; J.G. Kenna, 1997 Dansette P.M. et al., 1998]. Эти неоантигены образуются практически у всех экспонированных к галотану лиц, но лишь у незначительной части развивается иммунная реакция на них. При повторных анестезиях галотаном распознавание неоантигенов облегчается. Факторами риска галотановой гепатотоксичности являются повторные анестезии, женский пол, ожирение (повышение активности CYP 2Е1), индукция ферментов метаболизма, генетическая предрасположенность [Cousins M.J., Plummer J.L., Hall P.D., 1989; J.L. Raucy et al., 1991; J.G. Kenna, 1997; Ferrara et al., 1997; Larrey D., Pageaux G.P., 1997].

Trump BF, Berezesky IK, Chang SH, Phelps PC. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. Toxicol Pathol 1997 Jan-Feb;25(1):82-8

ДЛЯ ЗАМЕНЫ

Department of Pathology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore 21201, USA.

The pathways and identification of cell injury and cell death are of key importance to the practice of diagnostic and research toxicologic pathology. Following a lethal injury, cellular reactions are initially reversible. Currently, we recognize two patterns, oncosis and apoptosis. Oncosis, derived from the Greek word "swelling," is the common pattern of change in infarcts and in zonal killing following chemical toxicity, e.g., centrilobular hepatic necrosis after CC14 toxicity. In this common reaction, the earliest changes involve cytoplasmic blebbing, dilatation of the endoplasmic reticulum (ER), swelling of the cytosol, normal or condensed mitochondria, and chromatin clumping in the nucleus. In apoptosis, the early changes involve cell shrinkage, cytosolic shrinkage, more marked chromatin clumping, cytoplasmic blebbing, swollen ER on occasion, and mitochondria that are normal or condensed. Following cell death, both types undergo postmortem changes collectively termed "necrosis." In the case of oncosis, this typically involves broad zones of cells while, in the case of apoptosis, the cells and/or the fragments are often phagocytized prior to their death by adjacent macrophages or parenchymal cells. In either case, the changes converge to a pattern that involves mitochondrial swelling, mitochondrial flocculent densities and/or calcification, karyolysis, and disruption of plasmalemmal continuity. The biochemical mechanisms of cell death are currently under intense study, particularly concerning the genes involved in the process. Pro-death genes include p53, the ced-3/ICE proteases, and the Bax family. Anti-death genes include ced-9/Bcl-2 and the adenovirus protein EIB. It is clear that ion deregulation, particularly that of [Ca2+]i plays an important role in cell death following either apoptosis or oncosis. Genetic evidence strongly indicates that activation of proteases is an important step, possibly very near to the point where cell death occurs.

Publication Types:

\* Review

\* Review, tutorial

Поражения печени ксенобиотиками имеют топографические особенности, что отображает структурную и функциональную неоднородность ацинуса печени. В первой зоне ацинуса гепатоциты прилежат к портальному тракту и получают большее количество кислорода и питательных веществ, в сравнении с гепатоцитами второй и особенно третьей зоны [Kedderis G.L., 1996; Oinonen T., Lindros K.O., 1998]. Перипортальные гепатоциты (зона 1) содержат больше митохондрий и в них более интенсивно протекают энергетические процессы, включая бета-окисление жирных кислот, обмен аминокислот и синтеза мочевины, глюконеогенез. Перивенозные гепатоциты (зона 3) содержат меньше митохондрий, но больше эндоплазматического ретикулума, и в них в большей мере, чем в гепатоцитах первой и второй зон сосредоточены процессы окисления и конъюгации ксенобиотиков. Однако в перевенозных гепатоцитах имеется дисбаланс между продукцией токсических метаболитов и их обезвреживанием, поскольку глутатионпероксидаза, ферменты конъюгации с глюкуроновой кислотой, глутатионом, сульфатом экспрессируются слабее, чем изоформы цитохрома Р450. Поэтому в гепатоцитах 3 зоны образуется большее количество реакционноспособных метаболитов ксенобиотиков и они хуже обезвреживаются. Вследствии особенностей метаболизма и кровоснабжения гепатоцитов поражения печени ксенобиотиками, как впрочем и другие виды поражений (воспалительное, ишемическое) чаще всего затрагивают гепатоциты перивенозной зоны [Mayumi T., Chan C.K., Clemens M.G., Bulkley G.B. 1996 Kedderis G.L., 1996 Nakamura Y., Takahashi T., 1998], которые морфологически расцениваются как центролобулярные поражения.

Конечно, при центролобулярных поражениях, в той или иной мере затрагиваются и гепатоциты других зон. В значительной мере распространенность поражения определяется тяжестью поражения. Так, например, в зависимости от тяжести отравления кокаин вызывает преимущественно перипортальные некрозы, при фульминантных гепатитах некрозы могут захватывать среднюю зону и даже перивенозную зону [Kanel G.C., Cassidy W., Shuster L., Reynolds T.B.,1990; Powell C.J., Charles S.J., Mullervy J., 1995].

Преимущественно центролобулярные поражения вызывают большинство классических гепатотоксинов: галогенированные углеводороды - четыреххлористый углерод, хлороформ, галотан и другие [Larson J.L., Wolf D.C., Butterworth B.E., 1993; Mizuoka H., Shikata N., Yang J., Takasu M., Inoue K., Tsubura A., 1999], диметилнитрозамин, диэтилнитрозамин [Mizuoka H, Shikata N., Yang J., Takasu M., Inoue K., Tsubura A., 1999], бромбензол, парацетамол [Lee V.M., Cameron R.G., Archer M.C., 1998], N-метилформамид [Tulip K., Timbrell J.A.., 1988], кумарин [Lake B.G., Evans J.G., 1993], метимазол [Mizutani T., Murakami M., Shirai M., Tanaka M., Nakanishi K., 1999], нимесулид [Roskams T., Desmet V., 1998] и другие.

К токсинам, вызывающим преимущественно перипортальные некрозы, относят аллиловый спирт [Sell S., 1997], линдан [Videla L.A., Arisi A.C., Fuzaro A.P., Koch O.R., Junqueira V.B., 2000], кокаин [Rosenberg D., Ilic Z., Yin L., Sell S., 2000], витамин А [Shintaku T., Murata T., Yamaguchi K., Makita T., 1998], железо [Houglum K., Bedossa P., Chojkier M., 1994], метилэтилкетонпероксид [Karhunen P.J., Ojanpera I., Lalu K., Vuori E., 1990]

Одним из объяснений преимущественно перипортальных поражений печени ксенобиотиками, является то, что именно гепатоциты зоны 1, первыми контактируют с кровью воротной вены,с которой поступают ксенобиотики. Поэтому прямо действтующие токсины (не требующие метаболической активации в токсические метаболиты) будут вызывать поражение именно этой зоны. Однако эта гипотеза является малоубедительной, поскольку и типичный перипортальный гепатоксин требует превращения в токсический метаболит – акролеин, а катализируемое алкогольдегидрогеназой окисление аллилового спирта в акролеин идет одинаково интенсивно, как в гепатоцитах зоны 1, так и зоны 3 [Belinsky S.A., Matsumura T., Kauffman F.C., Thurman R.G., 1984], так же как и кокаин для проявления токсичности требует метаболической активации в токсические метаболиты цитохром Р450-зависимыми монооксигеназами.

К токсинам, вызывающим преимущественно поражение зоны 2 (среднезональные некрозы), относят конканавалин А [Satoh M., Kobayashi K., Ishii M., Igarashi T., Toyota T. 1996], микробные эндотоксины в комбинации с этанолом [Horie Y., Kato S., Ohki E., Tamai H., Yamagishi Y., Ishii H., 2000].

**Токсический гепатит**. Токсический гепатит развивается в результате идиосинкразической реакции на введение ксенобиотиков и сопровождается системными проявлениями гиперчувствительности – лихорадкой, лимфаденопатией, сыпью, гистологической основой которого является диффузный некроз гепатоцитов, наличие моноцитарных и еозинофильных инфильтратов при сохраненной дольковой структуре печени [Sturgill M.G., Lambert G.H., 1997].

Изониазид считается классическим примером препарата, вызывающего гепатит в результате идиосинкразии. У 15-20% получающих изониазид пациентов отмечается повышение сывороточного уровня трансаминаз, из них лишь у 1% развивается гепатит, требующий отмены лекарства [Sturgill M.G., Lambert G.H., 1997]. Факторами риска являются голодание, прием индукторов Р450 (алкоголя, рифампицина, прогестерона и др.), возрастные изменения печеночного метаболизма и индивидуальная предрасположенность [Aziz S., Agha F., Hassan R., Fairoz S.A., Hassan K., 1990; E. Musch et al., 1987; S.-J. Hwang et al., 1997; J.R. Ungo, 1998; Stuart R.L., Wilson J, Grayson M.L.., 1999]

Идиосинкратическую гепатотоксическую реакцию вызывают также ранитидин, ловастатин [Devuyst O, Lefebvre C., Geubel A., Coche E. 1993; S. Ramrakhiani et al., 1998; M. Bruguera et al., 1998 ]. Известны эпизодические случаи острого гепатита на фоне приема ципротеронацетата, метформина, солей золота [ M.M. Babich et al., 1998; A. Lombardi et al., 1998; H.K. Koryem et al., 1998]. У 2% больных принимающих гипогликемический препарат троглитазон развивается тяжелый токсический гепатит [Kohlroser J., Mathai J., Reichheld J., Banner B.F., Bonkovsky H.L., 2000].

Применение НПВС может сопровождаться токсическим гепатитом и холестазом у некоторых чувствительных лиц, независимо от дозы. Механизмы инициации и реализации пока неизвестны, однако показано, что кислые НПВС метаболизируются до реактивных ацил-глюкуронидов, которые образуют ковалентные аддукты с белками плазмы и гепатоцитов. НПВС-измененные белки действуют как иммуногены и запускают цитотоксическую Т-клеточную или антителозависимую цитотоксичность у восприимчивых больных [Boelsterli U.A., Zimmerman H.J., Kretz-Rommel A. 1995]. В литературе имеется множество данных о серьезном токсическом гепатите, вызванным диклофенаком, который сопровождался системными реакциями гиперчувствительности, имел высокий процент летальности и требовал назначения преднизолона [Helfgott S.M. et al., 1990; Rabinovitz M., Van Thiel D.H. 1992; Bjorkman D. 1998; Schattner A. et al., 2000]. Фенитоин и сульфосалазин также вызывают системные реакции гиперчувствительности с развитием токсического гепатита [Howard P.A. et al., 1989; Besnard M. et al., 1999].

В некоторых случаях идиосинкратическая реакция на лекарство может завершиться развитием тяжелого аутоиммунного гепатита, с появлением антител против печеночной ДНК, как это описано в отношении больных получавших миноциклин [Teitelbaum J.E., Perez-Atayde A.R., Cohen M., Bousvaros A., Jonas M.M., 1998].

## **Стеатоз**. Стеатоз развивается вследствие аномальной аккумуляции триглицеридов внутри гепатоцитов и их накопления [Zimmerman H.J., Maddrey W.C.., 1993; Lammert F., Matern S., 1997; Fromenty B., Pessayre D., 1997; Pessayre D. et al., 1999; Hegedus G., 2000]. Макровезикулярный стеатоз (при хроническом употреблении этанола) характеризуется единичными большими цитоплазменными вакуолями триглицеридов внутри гепатоцитов, которые смещают ядро к периферии. Механизм развития макровезикулярного стеатоза включает стимуляцию синтеза жирных кислот и триглицеридов из жирных кислот, замедление удаления триглицеридов из гепатоцитов.

Микровезикулярный стеатоз менее частый, но более опасный вариант гепатотоксической реакции, развивается преимущественно в результате дефицита митохондриального ß-окисления жирных кислот и характеризуется наличием множества мелких вкраплений триглицеридов внутри гепатоцитов, которые не смещают ядро [Conte D., Bolzoni P., Fraquelli M., Bodini P., Velio P.,1995; Lammert F., Matern S., 1997; Fromenty B., Pessayre D., 1997 Pessayre D., Mansouri A., Haouzi D., Fromenty B., 1999; Su G.M., Sefton R.M., Murray M., 1999]. ß-окисление жирных кислот - критический процесс, так как образующиеся в результате него молекулы ацетил-КоА, являются важнейшими источником АТФ в клетке. Прерывание этого процесса приводит к этерификации жирных кислот в цитоплазме до триглицеридов и их накоплению, лишает клетки энергии и нарушает их функцию.

Микровезикулярный стеатоз способны вызывать аспирин, тетрациклины, изониазид, гидразин, аминептин, тианептин, амиодарон, пергексилин, желчные кислоты, оротовая кислота, препараты ниацина, синтетические эстрогены, тиклопидин и многие другие лекарства [Sarich T.C. et al., 1996; Fromenty B., Pessayre D., 1997 Su G.M. et al., 1999; Remy A.J. et al., 1999].

Большую группу лекарств, способных вызвать стеатоз, составляют препараты, используемые в лечении СПИДа и вирусных гепатитов – зидовудин, ламивудин [ter Hofstede H.J. et al., 1998; Sulkowski M.S. et al., 2000]. Вальпроевая кислота вызывает поражение печени примерно у 11-20% пациентов, которое сопровождается безсимптомным повышением активности сывороточных трансаминаз и морфологически проявляется микровезикулярным стеатозом. Вальпроевая кислота способна ингибировать бета-окисление жирных кислот через истощение свободного коэнзима A и карнитина (поскольку вальпроевая кислота конкурирует в митохондриях за ферменты и кофакторы бета-окисления), что приводит нередко к фатальному поражению печени [Fromenty B., Pessayre D., 1997; Konig S.A., et al., 1999]. Очевидно нарушение бета-окисления жирных кислот не единственная причина тяжелого поражения печени. Образующийся при участии цитохромов подсемейства CYP4В реакционноспособный метаболит 2-пропил-4-пентеноевая кислота, способен истощать запасы восстановленного глутатиона, КоА и также является индуктором микровезикулярного стеатоза [Baillie TA., 1992 Kassahun K et al., 1994].

Терапия амиодароном осложняется поражениями печени довольно часто, от бессимптомного снижения функции печени у 15-55% больных до выраженных нарушений (желтуха, гепатомегалия, цирроз или хронический активный гепатит), иногда с летальным исходом. Наиболее частой гистологической основой амиодароновой гепототоксичности является микро- и макровезикулярный стеатоз [Flaharty K.K. et al., 1989; Lewis J.H., et al., 1990; Sturgill M.G., Lambert G.H., 1997 Iliopoulou A. et al., 1999]. Несколько реже развивается фосфолипидоз, который характеризуется аккумулированием комплексов фосфолипид-лекарство внутри лизосом гепатоцитов, клеток желчных путей, купферовских клеток.

Основной метаболит кетоконазола дез-N-ацетилкетоконазол также индуцирует накопление фосфолипидов и способен вызвать тяжелое поражение печени [Whitehouse L.W. et al., 1994; Findor J.A. et al., 1998].

**Холестаз**. Индуцированный ксенобиотиками холестаз является результатом нарушения продукции желчи и ее выведения. Индуцированный лекарствами холестаз имеет разнообразные проявления и включает нарушение гепатоцелюлярной секреции желчи (чистый холестаз или холестатический гепатит), обструкцию дуктул (холангиолит) или междольковых протоков (холангит), или внепеченочную обструкцию [Erlinger S., 1997]. Чистый холестаз без гепатита индуцируется, как правило, стероидами, а в остальных случаях холестаз чаще сопровождается явлениями некроза (апоптоза), воспалительной, аутоиммуной реакции [Erlinger S., 1997].

В основе холестаза лежит повреждение ксенобиотиками каналикулярных мембран и цитоскелета, ингибирование АТФ-зависимых транспортных механизмов, нарушение функции белков-транспортеров органических анионов, желчных кислот, Р-гликопротеина и белка множественной резистентности, нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция и глутатиона [Harada M., E.T. AL., 1994; Erlinger S., 1997; Kamisako T. et al., 1999 Suzuki H., 1999; Stieger B. et al., 2000; Bouchard G. et al., 2000]. Так, циклоспорин, рифампицин, глибенкламид, эстрогены тормозят транспорт желчных кислот транспортером Bsep, зависимый от АТФ [Kadmon M., et al., 1993; Stieger B. et al., 2000 Huang L., Smit J.W., Meijer D.K., Vore M., 2000]. Холестазу, как правило, сопутствует усиленный выход в желчь и кровь белков и ферментов каналикулярных мембран [Arrese M., Pizarro M., Solis N., Koenig C., Accatino L., 1995], что используется в диагностических целях, как например, определение активности гама-глутамилтрансферазы и щелочной фосфатазы.

Типичными индукторами холестаза являются синтетические эстрогены и 17-замещенные стероиды. В клинической практике стероидный холестаз связан с приемом пероральных контрацептивов и анаболических стероидов [Dourakis S.P., Tolis G., 1998; Habscheid W., Abele U., Dahm H.H., 1999] и проявляется каналикулярным (канальцевым) холестазом [Wang C.K. et al., 1995; Sturgill M.G., Lambert G.H., 1997; Stieger B., et al., 2000]. Признаки системной гиперчувствительности и поражения печеночных клеток отсутствуют. Билиарный стаз преимущественно выражен в канальцах, поэтому не возникает воспаления или некроза. Повреждение обычно полностью восстанавливается через 2 месяца после отмены препарата. Риск развития стероидного холестаза выше у лиц, в анамнезе у которых была желтуха во время беременности.

Гепатоканаликулярный холестаз (паренхиматозно-канальцевый холестаз), развивающийся в результате реакции гиперчувствительности, характеризуется выраженным портальным воспалением и вторичным повреждением канальцев. Такое поражение печени, например, возникает у 1-2% больных, получавших аминазин. Аминазин и его 7,8-дигидрокси и 7-гидрокси метаболиты изменяют образование желчи через повреждение каналикулярных мембран и Na+/K+-ATФ-азы [Wang C.K. et al., 1995]. Иммунологический механизм развития этой токсической реакции подтверждается его редкой встречаемостью в популяции (<2%), внезапным началом (обычно на первом месяце терапии) и быстрым исчезновением симптомов после отмены препарата.

Применение каптоприла, эналаприла, лизиноприла и других ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента может осложняться холестатическим гепатитом, возможным механизмом которого, кроме идиопатической гиперчувствительности, являются изменения в метаболизме эйкозаноидов [Hagley M.T. et al., 1993; Hurlimann R., et al., 1994]. Гепатотоксическое действие ингибиторов ангиотензинконвертирующего фермента требует метаболической их активации до токсических метаболитов при участии ферментов цитохрома Р450 [Jurima-Romet M., Huang H.S., 1993].

Паренхиматозно-канальцевый холестаз нередко является осложнением терапии амиодароном [Chang C.C., et al., 1999], применения пропоксифена и пропафенона [Rosenberg W.M. et al., 1993; Mondardini A., et al., 1993], пироксикама [Poniachik J., et al., 1998], диклофенака [Hackstein H. et al., 1998].

Описаны десятки случаев выраженного холестаза после приема тиабендазола, часть из которых завершилась формированием микронодулярного цирроза [Roy M.A. et al., 1989; Eland I.A., et al., 1998].

Способны вызывать холестатический гепатит тиклопидин [Grieco A. et al., 1998], ранитидин [Ramrakhiani S., et al., 1998], азатиоприн [Romagnuolo J. et al., 1998] и другие противоопухолевые препараты [Полунина Т.Е., 1999], ингибиторы синтеза холестерина – симвастатин, правастатин [Bielecki J.W., et al., 1999]

Клавулановая кислота, входящая в состав антибиотика амоксиклава, эритромицин и другие макролиды, пенициллины также вызывает холестаз с системными проявлениями гиперчувствительности [Westphal J.F. et al., 1994; Nathani M.G. et al., 1998; Horn S. et al., 1999; Horn S., et al., 1999]. Противогрибковый препарат тербинафин вызывает холестатический гепатит [Vivas S., et al.,1997], как и иммунодепрессант циклоспорин [Chan F.K., Shaffer E.A.., 1997].

Причиной холестаза может быть склерозирующий холангит - прогрессирующий фиброз внутри- или внепеченочных желчных протоков, вследствие токсического повреждения ветвей печеночной артерии, кровоснабжающих желчные протоки. Это поражение обычно возникает при внутриартериальном введении цитостатических препаратов – 5-фтордезоксиуридина [Andrews J.C. et al., 1991], 5-фторурацила [Miyamoto S. et al., 1995], флоксуридина [Rougier P. et al., 1992]

### **Лекарственное поражение сосудов печени**. Вено-оклюзивное заболевание - серьезное лекарственное поражение печени, характеризующееся тромбозами эфферентных печеночных венул, что приводит к центролобулярным некрозам и нарушению оттока крови и прогрессирует в застойный цирроз [Zafrani E.S., 1997; Bearman S.I., 2000]. Вено-оклюзивная болезнь быстро прогрессирует и завершается печеночной недостаточностью и смертью части пациентов. Предполагается, что в основе веноокклюзивных болезни лежит более или менее избирательное поражение лекарствами синусоидальных эндотелиальных клеток [DeLeve L.D. et al., 1996; Bearman S.I., 2000]. Гистологически веноокклюзивная болезнь характеризуется преимущественно повреждениями в 3-й зоне ацинуса и вокруг центральной вены, а в патогенезе ее возникновения важную роль играет воспалительная реакция и активация свертывания крови [Faioni E.M., Mannucci P.M., 1997]. Маркерами возможного развития веноокклюзивной болезни является определение воспалительных интерлейкинов,острофазовых белков и факторов свертывания крови [Faioni E.M., Mannucci P.M., 1997].

Циклофосфамид, азатиоприн, бусульфан, мелфалан, тиотеф, этопозид, циклофосфамид и общее облучение способны индуцировать развитие вено-окклюзивной болезни [Styler M.J., et al., 1996; Zafrani E.S., 1997; Azoulay D., et al., 1998; Copelan E.A. et al., 2000 Bearman S.I., 2000]. Веноокклюзивные поражения стали серьезной проблемой при использовании цитостатической иммуносупрессивной терапии при пересадке костного мозга и встречаются с частотой 27-28% [Styler M.J., et al., 1996 Lee J.L., et al., 1999]. У части пациентов они явились причиной смерти, или потребовали оперативных вмешательств связанных с наложением портосистемных шунтов или пересадкой печени [Azoulay D., et al., 1998 Copelan E.A. et al., 2000]. Проблема осложняется отсутствием четких критериев позволяющих предвидеть развитие веноокклюзивной болезни у больных, нуждающихся в применении цитостатической терапии.

Способностью вызывать веноокклюзивную болезнь обладают некоторые пирролизидиновые алкалоиды растений, используемые в народной медицине или при приготовлении напитков, в частности монокроталин, сенецефиллин, алкалоиды гелиотропа, что в ряде стран Африки, Востока и Средней Азии является нередкой причиной тяжелых поражений печени у населения, включая синдром Бада-Киари [McDermott W.V. et al., 1994; Prakash A.S. et al., 1999; Steenkamp V. et al., 2000].

Пероральные контрацептивы, тамоксифен, андрогены, даназол, 2-хлор-3-дезоксиаденозин, иногда азатиоприн, также могут также вызывать своеобразные повреждения печени, так называемый пелиозный гепатит – при котором образуются крупные, заполненные кровью полости в паренхиме печени, выстланные синусоидальными клетками [Lorcerie B et al., 1990; Yap I, et al., 1993; Makdisi WJ et al., 1995; Zafrani ES, 1997; Romagnuolo J et al., 1998; Dourakis SP, Tolis G, 1998 Gushiken FC, 2000; Bearman S.I. 2000]. Пероральные контрацептивы могут привести к обструкции печеночных вен (синдром Бадда-Киари) из-за их тромбогенных свойств [Tarantino G. et al., 1990; Zimmerman H.J., Maddrey W.C., 1993].

**Фиброз**. Фиброз развивается при большинстве поражений печени, но только при некоторых из них он является преобладающим признаком. Фиброзная ткань откладывается в пространстве Диссе и нарушает кровоток в синусоидах, приводя к развитию портальной гипертензии и нарушению функции гепатоцитов [Trigueiro de Araujo M.S. et al., 1993]. Механизм индукции ксенобиотиками фиброза предусматривает как первый этап некротическое поражение печени, к которому на дальнейших этапах присоединяются нарушения пролиферации клеток, что выражается в снижении синтеза трансформирующего фактора роста бета, что показано на модели фиброза печени мышей, вызванной конканавалином А [Kimura K. et al., 1999]. Важное место в стимулировании фиброза печени принадлежит не только цитокинам, но и активации звездчатых клеток, подавлению активности матриксных протеиназ [Li D., Friedman S.L., 1999].

Наиболее известным примером фиброза печени является поражение печени метотрексатом, который метаболизируется монооксигеназной системой с образованием токсического метаболита, вызывающего фиброз с последующим развитием цирроза у части пациентов [Kawasaki H. et al., 1994; Zachariae H et al., 1996]. Примерно у 3-8% больных ревматоидным артритом или псориазом, лечившихся метотрексатом, выявляются гистологичкеские признаки фиброза [Whiting-O'Keefe QE et al., 1991]. По некоторым данным фиброз развивается у 23% пациентов ревматоидным артритом, лечившихся метотрексатом [Malatjalian DA et al., 1996]. Определение матриксных белков, коллагена типов III и IY, трансформирующего фактора роста бета в крови пациентов, во время терапии метотрексатом, является чувствительным показателем возможного развития фиброза печени [Jaskiewicz K. et al., 1996]. У 93% больных ревматоидным артритом, в которых впоследствии развился фиброз печени, во время лечения метотрексатом наблюдалось повышение активности трансаминаз [Hashkes P.J. et al., 1997]. Выраженность индуцированного метотрексатом фиброза печени различна: у 48,6% выявляются легкие фибротические изменения, у 41,8% - умеренные, у 4% -тяжелые [Richard S. et al., 2000].

Подобные поражения печени вызывают и другие цитостатики – циклофосфосфамид, азатиоприн [Duvoux C. et al., 1991], а также метилдофа, изониазид, витамин А [Kawasaki H. et al., 1994].

У части больных диабетом принимающих гипогликемический препарат троглитазон развивается фиброз печени [Kohlroser J. et al., 2000]. У наркоманов, принимающих героин, также развивается фиброз печени [Trigueiro de Araujo M.S. et al., 1993].

#### **Опухоли печени**. Длительное употребление оральных контрацептивов и даназола ассоциируется с развитием аденомы печени у женщин детородного возраста [Shortell C.K., Schwartz S.I., 1991; Balazs M., 1991; Fermand J.P. et al., 1998 Rumi A et al., 2000]. Как правило эта опухоль уменьшается или исчезает после отмены препарата. Гепатоцелюлярная карцинома ассоциирована с длительным приемом анаболиков и половых гормонов [Herman P. et al., 1994; Dourakis S.P., Tolis G., 1998]. Экспериментально показана возможность индукции эстрогенами опухолей печени у некоторых линий хомячков [Coe J.E. et al., 1998].

**Методы оценки остаточной функции печени**

К сожалению, рутинные биохимические исследования позволяют оценить степень поражения печени, но не дают возможности судить об функциональном резерве печени – массе функционирующих гепатоцитов. В то же время, определение клиренса веществ, метаболизируемых печенью, позволяет динамически определять ее остаточную метаболическую способность (77). Такие вещества должны отвечать определенным требованиям: минимальное связывание с белками плазмы, нетоксичность, быстрое и полное всасывание при оральном назначении.

**Клиренс кофеина**

Елиминация кофеина зависит от P450-IA2-опосредованого N-деметилирования, в результате чего образуются urinary methylxanthine metabolites (154). Для определения клиренса кофеина используются несколько методов: высокоспечифичный для P450IA2 дыхательный тест с [13C]кофеином (157) и определение кофеина в слюне, моче и плазме методом высокоэфективной жидкостной хроматографии, который является менее спечифичным для P450IA2, поскольку эти метаболиты образовываются также и за счет других изоформ P450IIIA4, и P450IIA6 (155 156 157158 159 160). Клиренс кофеина является надежным методом оценки функции печени, однако на его результаты могут влиять курение (индукция P450IA2), пол, возраст и прием других медикаментов(162)(163)(164).

**Проба с нагрузкой галактозой**

Галактоза метаболизируется печеночным ферментом галактокиназа, который имеет меньшее количество индивидульных вариабельностей, чем система цитохромом P450 (77), что повышает диагностическую значимость метода (165). Для исследования метаболизма галактозы применяют дыхательный тест с [14C] галактозой, и внутривенную пробу с последующими многократным определением концентрации галактозы в течение 2 часов (166) (167). Элиминация галактозы тесно зависит от массы функционируюцих гепатоцитов и снижается при остром и хроническом некрозе гепатоцитов, однако мало изменяется при холестатическом повреждении печени (170).

## **Проба с лидокаином**

Лидокаин в печени подвергается N-деметилированию до моноэтилглицинэксилидида (МЭГЭ) изоформой P450IIIA4 (77,173). Определение концентрации МЭГЭ в сыворотке после ввнутривенного введения лидокаина позволяет судить о функциональном резерве печени. Клиренс лидокаина выше у мужчин, лиц молодого возраста, и зависит от введения лекарств, способных изменять активность цитохрома P450IIIA4 (176). Степень снижения клиренса лидокаина при циррозе печени коррелирует с прогнозом заболевания (177,178). Однако считается, что при оценке цитотоксического поражения проба с лидокаином менее эффективна, чем проба с галактозой (180).

**Клиренс антипирина**

Антипирин почти полностью реабсорбируется после орального применения, не связывается с белками плазмы. Элиминация антипирина полностью зависит от метаболизма в печени (77,181). Клиренс антипирина имеет большое значение в оценке тяжести хронической печеночной недостаточности (182) и тесно корелирует с протромбиновым временем, гипоальбуминемией и серьезностью гепатоцелюлярного повреждения (183), но имеет меньшую ценность при оценке острого повреждения печени. Оценка антипиринового теста может быть затруднительна из-за индивидуальной вариабельности активности цитохрома P450 (185).

[14C ]аминопириновый дыхательный тест.

Аминопирин в печени подвергается N-деметилирование цитохромом Р450 (77). На показатели теста могут влиять дефицит глутатиона, фолатов или витамина B12, инфекции и заболевания щитовидной железы (189). Острое и хроническое поражение гепатоцитов проявляется уменьшением клиренса аминопирина (190) (191).

Влияние индукции ферментов цитохрома Р450 на гепатотоксичность ксенобиотиков.

Увеличение экспресии ферментов системы цитохрома Р450 в результате индукции определенной изоформы P450 приводит к повышению выработки токсических метаболитов [S.Cottrell et al., 1996]. Например, омепразол индуцирует изофермент Р450-I-А, который ответственен за биотрансформацию проканцерогенов, и возможно, увеличивает риск развития опухолей.

К общим агентам индукции относят этанол, ацетон и другие органические растворители, фенобарбитал, многие гормональные препараты, и даже сигаретный дым является мощным индуктором некоторых ферментов Р450 [M. Murray, 1992; L.M. Bornheim, 1998]. Например, этанол и изониазид индуцируют синтез изоформы Р450-II-E1 и тем самым увеличивают токсичность парацетамола. Ацетон при гиперкетонемии вследствие диабета, голодания и ожирения является субстратом и, одновременно, мощными индуктором Р450 2Е1 [H. Sippel et al., 1991].

Ферменты Р450 2Е1 имеют уникальную способность активировать в процессе метаболизма многие лекарственные препараты и другие ксенобиотики (на сегодняшний день известно более 85). К ним относятся ацетаминофен, летучие анестетики, кокаин, витамин А и его предшественник бета-каротин, ряд промышленных растворителей и химических канцерогенов [C.S. Lieber, 1997]. В то же время цитохром 2Е1 является основным ферментом, ответственным за свободнорадикальную активацию спиртов в микросомах печени, а пролиферация эндоплазматического ретикулума, связанная с его индукцией, приводит к усилению активности других цитохромов P-450, что приводит к ускорению метаболизма и развитию толерантности ко многим лекарствам [E. Albano et al., 1991; J.G. Kenna, 1997].

Индуцирующий эффект кетонов и алкоголя является время- и дозозависимым. Так, при хроническом потреблении алкоголя наблюдается 4-10-кратная индукция цитохрома, связанная не только с увеличением продукции ацетальдегида, но также с образованием радикалов кислорода, которые промотируют пероксидацию липидов [C.S. Lieber, 1997]. При поступлении же этанола в организм после препарата с предсказуемым гепатотоксическим действием (например, парацетамола) он может оказывать гепатопротекторный эффект, выступая как конкурентный ингибитор [V.F. Price, D.L. Jollow, 1983; M.T. Brondeau et al., 1989]. Голодание, этанол и ацетон, кроме того, ухудшают функционирование детоксицирующих систем - снижают скорость глюкуронирования (на 40%) и сульфирования (примерно на 30 %), истощают содержание глутатиона и гликогена в печени [V.F. Price et al., 1987 ; M.P. Kalapos et al., 1992; B.L. Vogt, J.P. Richie, 1993; C.S. Lieber, 1997].

Сочетанный эффект индукции этанолом, истощение защитных систем глутатиона (в т.ч., из-за плохого питания), возможная наследствення предрасположенность и алкогольное поражение печени обьясняет высокую частоту гепатотоксических реакций у алкоголиков. Именно прием ацетаминофена на фоне алкоголизма является наиболее частой причиной острой недостаточности печени в Соединенных Штатах и Австралии [W.M. Lee, 1995; H.J. Zimmerman, W.C. Maddrey, 1995; C.S. Lieber, 1997a].

Анорексия и голодание является фактором риска развития лекарственной гепатотоксичности у лиц, получающих на этом фоне медикаментозную терапию. В особенности это касается детей, которые принимают жаропонижающие средства и другие препараты при гипертермии, лишающей их аппетита [E.M. Alonso et al., 1995; T. Rivera-Penera et al., 1997]. Возможно, что вынужденный отказ от пищи перед проведением анестезии так же вносит свой вклад в развитие токсической реакции после применения анестетиков [ M.J. Laster et al.,1997].

Эффект индукции может давать и экспозиция органических веществ, применяемых в промышленности (четыреххлористый углерод и др.), поэтому возможность их влияния следует учитывать как фактор риска развития гепатотоксичности у лиц, подвергающихся воздействию этих веществ в связи с условиями работы [Anonimus, 1992; D.V. Parke, A.L. Parke, 1996].

Основными факторами риска для развития лекарственной гепатотоксичности считают:

1) передозировку;

2) сочетанный прием нескольких лекарственных препаратов (или экспозицию к промышленным ксенобиотикам);

3) сопутствующие нарушения обмена (голодание, ожирение, диабет); [E.M. Alonso et al., 1995; T.Rivera-Penera et al., 1997] [ M.J. Laster et al.,1997].

4) поражение печени и(или) почек; течения [S.-J. Hwang et al., 1997; Fromenty et al., 1997; K.M. Jorga et al., 1998; J.R. Ungo et al.,1998]. [D.J. Morgan, A.J. McLean, 1995; G. Paintaud et al., 1996; K.M. Jorga et al., 1998].

5) гиперчувствительность пациента;

6) генетическую предрасположенность