



ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ: РОЛЬ НАРУШЕНИЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВАЦИИ/ПОДАВЛЕНИЯ ПРОЦЕССОВ СТРЕССА ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА И АНФОЛДИНГ-СИГНАЛИЗАЦИИ В МЕХАНИЗМЕ РАЗВИТИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ КСЕНОБИОТИКАМИ. АЦЕТАМИНОФЕН-ИНДУЦИРОВАННОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПЕЧЕНИ И ЕЁ МОДУЛЯЦИЯ БИОАКТИВНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Н.В. Великая, кандидат мед. наук¹, С.Т. Омельчук, доктор мед. наук, профессор¹,
В.Н. Залесский, кандидат мед. наук²

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МЗ Украины, г. Киев

²Национальный научный центр «Институт кардиологии имени академика Н.Д. Стражеско»
НАМН Украины, г. Киев

Резюме. Гепатотоксичность, индуцированная ксенобиотиками в условиях клеточного стресса, является серьёзной проблемой для клиницистов. Стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР) — это центральное звено многих генетических и приобретенных заболеваний человека, а также ключевой фактор поддержки белкового гомеостаза клеток. Присущее белкам свертывание (фолдинг), развертывание (анфолдинг), а также сохранение их молекул, являются высокорегулируемыми процессами клеточного гомеостаза. Структуры клеточного компартмента приспособливают эти процессы под задачи, связанные с обеспечением фолдинга собственных белков и контроля участия стресса ЭР в накоплении развернутых (анфолдинг) белков. Когда накопление анфолдинг белков достигает критических уровней, происходит восстановление гомеостаза путем индукции апоптотического сценария клеточной гибели. Накопление развёрнутых белков в эргастоплазме приводит к стрессу ЭР и усилению процесса анфолдинга молекул белка (UPR), благодаря активации ATF6, IRE1 и PERK сигнальных каскадов. Многие ксенобиотики оказывают влияние на стресс ЭР и UPR сигнализацию на фоне замедления или ускорения апоптоза. Нарушение регуляции активации (подавления стресса ЭР и UPR) сигнализации в клетке являются важнейшими параметрами для понимания механизмов гепатотоксичности, индуцированной ксенобиотиками. В работе также представлены данные о механизме ацетаминофен-индуцированной гепатотоксичности, регулируемой белком NrF2, и её модуляция биоактивными соединениями растительного происхождения.

Ключевые слова: ксенобиотики, гепатотоксичность, стресс эндоплазматического ретикулума, апоптоз, биоактивные соединения растительного происхождения.

Введение (механизмы гепатотоксичности ксенобиотиков). Печень играет важную роль в биотрансформации и клиренсе многих химических веществ и поэтому отличается высокой чувствительностью к токсическим влияниям ксенобиотиков (пестицидов, токсинов, поллютантов), а также к лекарственным соединениям и к окислительному стрессу [1]. Печень также является органом, высокочувствительным к кислородному голоданию и может страдать при действии соединений,

снижающих печеночный кровоток. Некоторые лекарственные вещества (при передозировке/при приёме в терапевтических дозах), а также химические соединения (растворители, лабораторные реагенты и ряд других) и даже растительные препараты, в т.ч. некоторые компоненты биодобавок, могут вызывать поражения печени.

Вещества, вызывающие повреждения печеночной ткани, принято называть гепатотоксическими (гепатотоксикантами) [2]. Существует большая

группа химических веществ, используемых в промышленности или сельском хозяйстве, либо образующихся в процессе производственных операций, которые относят к гепатотоксическим ядам.

Функциональной единицей печени является ацинус, состоящий из трёх концентрических зон гепатоцитов, расположенных вокруг портальной триады (терминальная ветвь воротной вены, печеночная артериола и желчный проток). Гепатоциты зоны 1, наиболее близкие к портальной триаде, более устойчивы к повреждению. Гепатоциты зоны 3, наиболее отдаленные от портальной триады, получают меньшее количество питательных веществ и особенно восприимчивы к ишемическому токсическому повреждению [3].

Процессы первой фазы метаболизма ксенобиотиков непосредственно контролируются микросомальной монооксигеназной системой, основной компонент контроля — цитохром P450 определяет функционирование всей системы метаболизма ксенобиотиков [4, 6]. Цитохром P450 представлен набором белков, близких по строению, но разных по субстратной специфичности. Сегодня уже идентифицировано более 100 сегментов цитохрома P450 [6, 7]. Многие ксенобиотики, первично нетоксичные для печени, в процессе биотрансформации в организме, способны превращаться в токсические метаболиты [5, 7].

Благодаря реакциям второй фазы происходит конъюгация образованных метаболитов с глюкуроновой, уксусной кислотами и глутатионом, что приводит к повышению их водорастворимости и облегчает выведение почками. Конъюгирование метаболитов предотвращает дальнейшее повреждение печени, так как большинство конъюгатов являются биологическими инертными веществами [8, 9]. Химические соединения, имеющие кривую зависимости «доза-эффект», обладают хорошо изученными механизмами гепатотоксического действия, такими, как прямое повреждение гепатоцитов или блокада тех или иных метаболических процессов в печени [10-12]. Типичным примером прямой гепатотоксичности является гепатотоксичность ацетаминофена (парацетамола) при передозировке, связанная с насыщением его обычного пути метаболизма (имеющего ограниченную пропускную способность) и включением альтернативного пути биотрансформации ацетаминофена, при котором образуется токсический высокореактивный нуклеофильный метаболит. При этом само по себе включение альтернативного пути биотрансформации ацетаминофена еще не приводит к повреждению печени. К прямому повреждению гепатоцитов ведет накопление токсического метаболита ацетаминофена в таких количествах, при которых он не может быть эффективно обезврежен путем связывания с глутатионом (GSH) [9].

GSH восстанавливает любую дисульфидную связь (S-S), образующуюся между цистеинами цитозольных белков. При этом восстановленная форма глутатиона превращается в окисленную (GSSG). Восстанавливается окисленный глутатион под действием фермента глутатионредуктазы, который постоянно находится в клетке в активном состоянии и индуцируется при окислительном стрессе. Отношение восстановленный/окисленный глутатион является одним из важнейших параметров, который показывает уровень внутриклеточной токсичности (уровень окислительного стресса) [3].

Известно, что многие лекарственные препараты подвержены метаболизму в печени. Этот обмен может существенно различаться у разных людей из-за генетических различий в активности ферментов биотрансформации лекарств, наличия дефектов в защитных механизмах, что увеличивает чувствительность к токсическим метаболитам, продуктам конъюгации метаболитов с белками и другим макромолекулам [13, 24].

Повреждения печени ксенобиотиками весьма многообразны и могут быть острыми и хроническими. Острое повреждение печени классифицируется как цитотоксическое, холестатическое и смешанное. Хроническое повреждение печени проявляется хроническим гепатитом, стеатозом, фосфолипидозом, вено-окклюзивной болезнью и другими болезнями [15-18].

Механизм влияния ксенобиотиков на нарушение функции печени проявляется индукцией метаболизирующих ферментов [19]. Хотя индукция метаболизирующих ферментов направлена на быстрое удаление чужеродного соединения из организма, длительное повышение активности ферментов нарушает обмен стероидных гормонов, витаминов (особенно ретинола и холекальциферола). Стимуляция синтеза гема может провоцировать гипербилирубинемию [22] и развитие порфирии [20, 21].

Известны два основных механизма гибели гепатоцитов — некроз и апоптоз [23, 24]. Основными этапами некроза являются: набухание клетки, потеря внутриклеточных компонентов, дезинтеграция ядра с последующим фагоцитозом погибших гепатоцитов клетками воспаления. *In vivo* некротическая гибель клетки сопровождается существенными повреждениями тканей и развитием 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 других факторов [23].

Апоптоз представляет собой генетически запрограммированную гибель клетки, при которой

клетка сама активно способствует своей гибели [24, 25]. Этот процесс запускается через специальные рецепторы смерти на клеточной поверхности (рецепторным путем) и ведет к активации ферментативных каскадов и ряда регуляторных белков, которые останавливают митотическую клеточную активность (p53), вызывают фрагментацию ДНК (эндонуклеазы), деградацию белков (каскад протеолитических ферментов со специфичностью к определенным протеинам), 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 (ROS) [27]. Морфологически апоптоз характеризуется образованием мембранных пузырей, агрегацией хроматина вблизи ядерной мембраны, конденсацией структур (сжатием клетки), фрагментацией клетки с образованием апоптотических телец и последующим их фагоцитозом. В отличие от некроза при апоптозе не возникает выраженного воспалительного ответа [26]. Традиционно считалось, что некроз инициируется нефизиологическими факторами, а апоптоз преимущественно физиологическими. Однако исследования последних лет показывают, что различия между апоптотическим и некротическим сценарием клеточной гибели не столь очевидны, как это представлялось ранее. Одни и те же факторы могут стимулировать оба процесса, как это доказано в отношении радикальных форм кислорода и азота [2]. Гепатотоксины способны вызывать гибель клеток как по механизму некроза, так и нефизиологического ускоренного апоптоза [23]. Оба механизма лежат в основе токсического действия парацетамола, тетрахлорметана и других гепатотоксинов, а соотношения между ними определяются дозой гепатотоксического соединения, применением протективных веществ и другими факторами [27].

Каким образом ксенобиотики включают механизм апоптоза предстоит еще выяснить. Возможно, решающее значение принадлежит рецептор-независимому механизму, который запускается неспецифическими факторами — оксидом азота, ROS и т.д., молекулами, способными повреждать макромолекулы и без апоптоза [25, 27]. Важная роль оксида азота подтверждается не только увеличением его образования после введения гепатотоксинов [28], но и протективной активностью ингибитора синтеза оксида азота — амингуанидина при повреждении печени тетрахлорметаном или парацетамолом [29]. Сам по себе оксид азота, особенно после взаимодействия с сульфоксидным радикалом и превращения в пероксинитрит, является реакционноспособным соединением и его неконтролируемое увеличение оказывает мощное повреждающее

действие на биологические структуры, вызывая их некротизирование и инициацию апоптоза [28, 29].

Этанол инициирует апоптоз и ROS [27]. Предполагается, что способность этанола вызывать апоптоз клеток HepG2 связана с окислительным стрессом. ROS могут появляться как побочный продукт каталитического цикла реакций, катализируемых цитохромом P450, синтетазой оксида азота, NADPH-редуктазой, диафоразой и другими ферментами, либо вследствие участия семихинонных метаболитов ксенобиотиков в реакциях одноэлектронного переноса с кислородом [27], либо в результате активации макрофагов, которые являются мощными продуцентами ROS [25].

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 связываются с критическими для гепатоцита макромолекулами [30, 31]. 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 печеночных клеток.

Наряду с цитохромом P450, другие ферменты также способны генерировать гепатотоксические метаболиты. В частности, алкогольдегидрогеназа катализирует окисление аллилового спирта в токсический метаболит — ненасыщенный альдегид акролеин, который вызывает окислительный стресс, обуславливая истощение восстановленного глутатиона и блокируя сульфгидрильные группы белков [3]. Одной из причин гепатотоксичности некоторых лекарств является полиморфизм генов ферментов, обеспечивающих их метаболизм. В число этих ферментов входят семейства цитохрома P450 (CYP), глутатион-S-трансферазы (GST), N-ацетилтрансферазы (NAT) и другие [33, 34].

В последнее время в качестве возможной причины токсического поражения печени изучается гиперпродукция провоспалительных цитокинов [32, 35]. Показана их роль в развитии стеатоза, гепатита различной этиологии: вирусного, аутоиммунного, септического, а также вызванного действиями ксенобиотиков, в том числе медикаментов и алкоголя, в процессах фиброобразования в печеночной ткани [36, 37, 41]. Развитие окислительного стресса, стимулированного активацией ферментов системы цитохромов P450, усиливает синтез в печени провоспалительных цитокинов. Существует мнение, что на гепатотоксичность препаратов существенное влияние оказывает

индивидуальный воспалительный статус. Наиболее значительными в развитии заболеваний печени являются провоспалительные цитокины, в частности фактор некроза опухолей-альфа (TNF- α), интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-8 (IL-8) [37].

Отмечено влияние некоторых видов полиморфизма генов цитокинов, влияющих на уровень их синтеза и ассоциированных с печеночной патологией. Полиморфизм генов TNF и IL-1 β оказывает существенное влияние этих цитокинов и на развитие патологии печени токсического генеза [34, 35]. Выявлено влияние курения на развитие фиброгенеза и рака печени [38, 39], что может быть связано не только с действием канцерогенов табачного дыма, но также с повышением уровней маркеров воспаления.

Наиболее значимой мишенью гепатотоксического действия ксенобиотиков являются цитохромы. Их дисфункция сопряжена с нарушением энергетического обмена и внутриклеточным окислительным стрессом с последующим образованием избыточных количеств ROS и пероксинитрита [27, 28]. Индукция цитохромов P-450, в частности CYP2E1, также способствует развитию окислительного стресса и повреждению гепатоцитов [3, 40]. Нарушение функции печеночных клеток приводит к накоплению желчных кислот, что усугубляет стресс и цитотоксический ответ.

Повреждение печеночных клеток эндотоксинами кишечника или их комбинациями активизирует также купферовские клетки и вызывает приток нейтрофилов в печень [3]. В определенных условиях эти воспалительные клетки вызывают дополнительное поражение печени. Повреждение и гибель клеток печени определяется не только природой и дозой ксенобиотика, но также такими факторами, как индивидуальный генетический профиль (в частности, полиморфизм генов ферментов, метаболизирующих ксенобиотики и цитотоксинов), антиоксидантный статус и способность к регенерации [34].

Роль стресса эндоплазматического ретикулама, а также процессов фолдинга и анфолдинга молекул протеинов при ксенобиотиками индуцированной гепатотоксичности. Стресс эндоплазматического ретикулама (ЭР) является центральным звеном многих генетических и приобретенных заболеваний человека, а также ключевым фактором поддержки клеточного гомеостаза [41]. Присущее протеинам правильное свертывание полипептидных цепей (“folding”), развертывание (“unfolding”), сборка и сохранение их молекул являются высоко регулируемы в процессе поддержки клеточного гомеостаза [42]. Структуры клеточного компартмента приспособливают эти процессы под задачи, связанные с обеспечением фолдинга собственных белков и контроль участия стресса в накоплении развернутых молекул про-

теина. Когда накопление развернутых молекул протеинов достигает критических уровней, происходит восстановление гомеостаза путем индукции апоптотического сценария клеточной гибели. Накопление развернутых протеинов в ЭР приводит к стрессу ЭР и усилению процесса развертывания протеинов (UPR) благодаря активации ATF6 (“transformationfactor 6”), IRE1 (“inositolrequiringenzyme 1”) и PERK (PKR-likeendoplasmicreticulumkinase”) сигнальных путей [41, 42]. Многие ксенобиотики оказывают влияние на стресс ЭР и UPR сигнализацию в клетке. Нарушение регуляции активации/подавления стресса ЭР и UPR сигнализации являются важными параметрами для понимания механизмов действия гепатотоксичности, индуцированной ксенобиотиками.

В клетках эукариот трансмембранные белки представлены 1-3 протеинами, которые транслоцируются в ЭР и участвуют в анфолдинге молекул протеинов и их посттрансляционных модификаций [43]. Необходимо отметить, что в дополнение к белковому фолдингу в ЭР также функционируют процессы биосинтеза липидов и стероидов, Ca²⁺ гомеостаза и метаболизма ксенобиотиков. Пертурбационные изменения гомеостаза ЭР могут приводить к накоплению молекул развернутых протеинов на поверхности ЭР, вызывая патологические изменения, обусловленные влияниями стресса эндоплазматического ретикулама.

Эволюционно консервативный внутриклеточный процесс анфолдинга протеинов (UPR) является триггером чувствительности структур эргастоплазмы к развертыванию протеиновых молекул [44]. UPR — это адаптивная реакция вместе с накоплением анфолдинг-протеинов в ЭР в ответ на повышение уровней протеинового фолдинга в ЭР, редукцию поступления протеинов в ЭР, а также на снижение клиренса т.н. “misfolded” протеинов деградации ЭР (“ERAD”). Накопление ERAD протеинов участвует в сигнальных каскадах, благодаря которым анфолдинг протеинов связан с деструктивными процессами путем трансформации этих протеинов в цитозоль для убиквитинилирования и протеосома-ассоциированной деградации.

ERAD комплекс, включающий такие компоненты как E3 убиквитин лигазы и Derliusпротеин. E3 убиквитин лигазы локализованы в центре ERAD сигнальных каскадов клетки и катализируют субстрат убиквитинилирования, а также образуют комплексы на обоих концах мембраны ЭР для координации ERAD-связанных событий. Другие протеины, в частности EDEMs (“ERdegradation-enhancing α -manuosidase-likeprotein”), участвуют в таргетировании “misfolded” гликопротеинов для Erad-зависимой деградации [45].

Сигнальные пути, связанные с разными формами клеточного стресса, в частности MARKs (“mitogen-activated proteinkinases”, JNK (“JuuN-termi-

nalkinase"), р 38 MARKи NF-κB, могут также находиться в состоянии активации. Апоптоз может выполнять адаптирующую функцию при инициации процесса анфолдинга молекул протеинов (UPR), но не способствовать процессу разрушения накопленных развернутых протеинов [46].

Стресс ЭР может быть индуцирован редокс-связанными нарушениями, гипоксией, гипогликемией, aberrантной регуляцией Ca^{2+} , расстройством энергетического баланса, вирусной инфекцией, сверхпродукцией трансмембранных белков, генетическими мутациями, фолдинг-контролирующими белками и дозой ксенобиотиков [47, 48]. Судьба гепатоцитов между выживанием и гибелью во многом зависит от устойчивого влияния и длительности стресс-ассоциированных событий. При этом часто клетки сами противостоят влиянию транзитных поражающих ЭР-фолдинг стресс-факторов, однако им не под силу "побороть" высокие дозы стрессовых влияний на эндоплазматический ретикулум.

Система стрессового ответа клетки для управления процессом анфолдинга протеинов цитозоля включает белки теплового шока (HSP90, HSP70 и другие), а также другие факторы теплового шока (HSF1, HSF2, HSF3, HSF4), чувствительные к уровням анфолдинг-протеинов и поддерживающие уровни стресса путем индукции активности специфических регуляторных генов (HSP90, HSP70, HSP40, HSP110) и других [50, 51]. Факторы теплового шока в интактной клетке находятся в неактивном состоянии и в мономерной форме. После активации эти протеины объединяются в тримерные комплексы, что позволяет им присоединиться к SRE ("specificresponseelements") — белкам клеточного ядра и активировать гены специфических факторов теплового шока [52].

Являясь сенсорами теплового шока, HSF1 в начале инициации фолдинга также образуют комплексы с шаперонами HSP [53]. Когда уровни анфолдинг-протеинов становятся довольно высокими, HSP 90 дистанцируется от HSF1, обеспечивая рефолдинг молекул анфолдинг-протеинов. В свою очередь, освобождение HSF1 в форме тримерных комплексов (как было отмечено ранее) активирует гены специфических факторов теплового шока [54] и на поздних стадиях сворачивания протеинов инициирует ингибирование трансляции [50, 55].

Митохондрии обладают собственной системой анфолдинга молекул протеинов UPR [56, 57]. В пределах митохондриального матрикса имеется группа шаперонов (mtHSP70, mtHSP60 и других), которые транслоцируются в матрикс и воспринимают сигналы процесса анфолдинга протеинов. Когда количество развернутых протеинов превышает уровни шаперонов, происходит рост экспрессии mtHSP60 и митохондриального протеазного комплекса (ClpXP) [58], что приводит к дегра-

дации повышенного количества анфолдинг-молекул протеинов на фоне транслокации за пределы митохондрий (в цитозоль) трансмембранного транспортера HAF-1 [58]. Прирост пептидов в цитоплазме являясь сигналом к повышению активности лейцин-связанного фактора транскрипции (ZCS76.7)-индуктора митохондриального HSP60-шаперонинга [59].

Данные процессы в сигнальных путях клеточных компартментов не являются взаимоисключающими при событиях, обусловленных клеточным стрессом. Например, шаперон HSP72 защищает секретирующие инсулин клетки поджелудочной железы от влияния LPS (липополисахарид)-индуцированного стресса эндоплазматического ретикулума, активирующего апоптоз через гомеобоксный белок 1 (XBP1) [60]. Ингибирование HSP90 приводит к повышению активации IRE1 белка в панкреатических клетках (линия INS-1)[61]. Также отмечено, что стресс ЭР может индуцировать усиление процесса шаперонинга [96]. Сигнальные пути стресса ЭР, управляющие анфолдингом молекул протеинов, имеют кооперативные связи с митохондриальным матриксом, ионами Ca^{2+} и апоптозом.

Активация анфолдинг-протеиновой сигнализации связана с тремя сигнальными путями в эргастоплазматическом ретикулуме (PERK, IRE1 и ATF6), представленными трансмембранными резидентными протеинами ЭР, имеющими сенсорные поверхностные домены, которые передают информационные сигналы о состоянии фолдинга протеинов эргастоплазмы в цитозоле и внутренних "ядерных эффектах" транскрипции, а также mRNA трансляции/деградации.

На раннем этапе анфолдинговых событий отмечен быстрый приток протеинов в ЭР, позволяющий клеткам восстанавливать нарушенный гомеостаз в пределах эргастоплазмы. При этом общая белковая трансляция тормозится путем замедления работы PERK-сигнального пути [62]. К тому же функция молекул mRNA, кодирующих активность трансмембранных протеинов, может блокироваться IRE1 [63]. На раннем этапе анфолдинга транслокация мембранных белков в ЭР замедляется [64, 65], а на позднем этапе процесс развертывания протеинов включает дифференцированную экспрессию генов-промоторов белкового фолдинга ЭР, а также генов-регуляторов апоптоза или ограничителей анфолдинг-сигнализации. Эти события объединяются по механизму обратной связи и перекрестно связаны с другими сигнальными каскадами, сопровождающими клетки в периоде их выживания или инициализации сценария клеточной гибели.

Активация PERK способствует олигомеризации и транс-аутофосфорилированию, а также фосфорилированию таких цитоплазматических мише-

ней, как cIrf2 и Nrf2 [62]. Фосфо-cIrf2 α обуславливает развитие процесса трансляции с ослаблением эффектов короткоживущих протеинов таких, как циклин D, I κ B, участвующих в развитии процессов пролиферации NF- κ B сигнализации [66]. Предпочтительная трансляция под контролем специфических генов происходит с участием фактора транскрипции ATF4, который активирует группу генов белкового анфолдинга, а также генов биосинтеза аминокислот и генов антиоксидантного контроля стресса [67].

Экспрессия белка CHOP ("C/EBP homologous protein") способствует повышению активности ATF4 протеина, который в свою очередь активирует проапоптотические гены и супрессирует гены, продвигающие внутриклеточные события к апоптотическому сценарию гибели клетки. CHOP также может повышать экспрессию протеина GADD 34, который участвует в дефосфорилировании eIF2 α , трансформируя PERK-медируемую сигнализацию в рамки адаптационного периода [68].

Активированный анфолдинговый белок сенсор-ATF6 транспортируется в аппарат Гольджи, где связывается с S1P и S2P протеазами, высвобождая в цитозольдомен, регулирующий транскрипцию [70]. Его фрагменты мигрируют в ядро и повышают экспрессию целевых генов анфолдинга молекул протеинов. В этой последовательности выстраиваются события разворачивания протеинов при оксидативном стрессе и гепатотоксичности, индуцированной ксенобиотиками [71, 72].

Известно, что снижение уровней Ca²⁺ в эргастоплазме приводит к торможению фолдинга протеинов в результате индукции стресса ЭР, а также может активировать проапоптотические молекулы в цитозоле [73, 74]. Внутриклеточный Ca²⁺, радикальные формы кислорода (ROS) и азота (RNS) играют важную роль мессенджеров во взаимодействии между митохондриями, стрессом ЭР, окислительным стрессом и воспалением. Однако ROS и RNS могут действовать в качестве сигнальных молекул, а также повреждать молекулы ДНК, белков и липидов, поэтому их продукция активно регулируется. Многие механизмы участвуют в продукции ROS, включая умеренное окислительное фосфорилирование или чрезмерное развитие фолдинга протеинов ЭР, которые связаны с продвижением ионов кальция в цитозоль.

Высокие концентрации ионов кальция в цитозоле приводят к захвату Ca²⁺ митохондриями через механизм открытия митохондриальных пор (MPTP, "mitochondrial permeability transition pore"), деполяризации внутренней митохондриальной мембраны, генерации дополнительного количества ROS в связи с дальнейшим выходом Ca²⁺ в цитоплазму из эргастоплазмы, а также триггеризации окислительного стресса и стресса ЭР на фоне развития апоптоза [75]. Эти процессы приводят к возникно-

ванию порочного круга событий, включающего продукцию ROS и RNS в эндоплазматическом ретикулуме или в митохондриях, истощение ионов кальция в ЭР и индукцию стресса ЭР.

Известно, что важной особенностью апоптоза является активация каспаз, которая приводит к протеолитическому расщеплению клеточных компонентов. Внутриклеточные (митохондриальные) апоптотические пути регулирования запрограммированной гибели клетки инициируются благодаря выходу из митохондрий в цитозоль специальных белков (BAX, BAX, цитохром c), которые олигомеризируются и образуют поры в наружной митохондриальной мембране [76]. Цитозольный цитохром c способствует олигомеризации Apaf-1 ("domain-containing adaptor protein-1), активации каспазы-9 и каспазы-3 [77]. Активация BAX и BAK способствует выходу Ca²⁺ в цитозоль и вызывает развитие проапоптотических сигнальных событий [78].

Другие апоптоз-регулирующие белки (BID, BIM и Bcl-2) вызывают потерю целостности митохондриальной мембраны, торможение активности анти-апоптотических белков (Bcl-2, BCL-XL и MCL-1), а также запуск олигомеризации проапоптотических белков (BAX и BAK), которые участвуют в пермеабиллизации наружной митохондриальной мембраны [79]. И, наоборот, Bcl-2 может ингибировать апоптоз путем связывания апоптоз-регулирующих белков (BIM, NOXA, Puma) [80]. Уровень Ca²⁺ в ЭР регулируется белком Bi-2, являющимся резидентом "трансмембранной гибели" (супрессорный белок), который взаимодействует с антиапоптотическими белками BCL-2 и BCL-XL [81].

Гиперэкспрессия Bi-1 обуславливает снижение концентрации Ca²⁺ в ЭР, в то время как нокадаун Bi-1 приводит к увеличению концентрации кальция в эргастоплазме [82]. Процесс олигомеризации Bi-1 в период стресса ЭР способствует Ca²⁺ антипортер-ассоциированному ответу, тем самым освобождая эндоплазматический ретикулум от избытка ионов кальция, а также снижая закисление цитозоля и, таким образом, поддерживая выживание гепатоцита [83]. Учитывая, что апоптоз — процесс, требующий значительных энергетических затрат, гибель гепатоцита может происходить согласно механизму некроза, если активация будет достаточно выраженной, чтобы привести к истощению запасов АТФ в клетке [3].

Ксенобиотики вызывают ЭР стресс-индуцированные цитотоксические эффекты. Некоторые ксенобиотики (ингибиторы 26S протеасом-бортезомид, MG-132; ингибиторы N-ацетилглюкозаминтрансферазы — туникамицин; редуценты дисульфидных связей — дитиотрейтол (ДТТ); мультикиназный ингибитор-сорафениб, а также — индометацин, целекоксиб и другие) могут вызывать стресс ЭР или модулировать приспособительные реакции в результате индукции апоптоза

с помощью разнообразных механизмов. Среди них: индукция анфолдинга молекул протеинов, модуляция N-связанного гликозилирования, формирование дисульфидных связей, ингибирование экспрессии шаперонов [84-89]. Другие ксенобиотики блокируют транспорт белков из эргастоплазмы в аппарат Гольджи, в результате резервного копирования белков в эргастоплазматическом ретикулуме могут тормозить анфолдинг протеинов, препятствуя развитию адаптивного ответа. Наконец, выявлено их участие в ингибировании процесса анфолдинга протеинов в результате ERAD-ассоциированного механизма убиквитилирования и протеосома-ассоциированной деградации в цитозоле. Это является характерным признаком способности ксенобиотиков вызывать развитие стресса ЭР и снижение клеточной выживаемости. Среди них известны: туникамицин, тапсигаргин, брэфелдин. Целый ряд фармацевтических препаратов также являются потенциальными стрессорами эндоплазматического ретикулума, в том числе: бортезомид, нелфинавир, атазанавир, ритонавир, лопинавир, сорафенид, индометацин, целекоксиб и другие [88].

Примером целевой ЭР стресс-модуляции может служить бортезомид (ингибитор протеасом), который индуцирует стресс эндоплазматического ретикулума в опухолевой (миеломной) клетке и приводит к появлению цитотоксических событий [89]. Эти клетки секретируют большое количество иммуноглобулинов и потому очень чувствительны к нарушению гомеостаза в пределах ЭР миеломных клеток, который в частности связан и со снижением их способности к деградации молекул протеинов (анфолдингу) [90].

К соединениям, используемым в качестве таргетных средств, вызывающих стресс ЭР, относятся нелфинавир, атазанавир, ритонавир и лопинавир. Первоначально они были синтезированы в качестве ВИЧ-1 ингибиторов протеаз. Оказалось, что они вызывали стресс ЭР и активировали анфолдинг молекул клеточных протеинов, возможно, по механизму ингибирования протеасом или при использовании высоких дозировок этих соединений [91]. Ритонавир и лопинавир также оказывают влияние на уровни Ca^{2+} в эргастоплазме гепатоцитов путем ингибирования белка SERCA [92]. Для многих ксенобиотиков точный механизм стресс-зависимой цитотоксичности ЭР еще не выявлен, но известна связь цитотоксических эффектов с высокими дозировками, что подталкивает клетки к апоптотическому сценарию гибели.

Известны примеры ксенобиотиков, обладающих цитопротективным действием в модельных системах как *in vitro*, так и *in vivo*. Механизмы цитопротекции разнообразны и включают: повышение содержания белков ЭР, участвующих в шаперо-

нинге; повышение экспрессии шаперонов; избирательную защиту анфолдинг-сигнализации. Антиоксиданты и антагонисты Ca^{2+} помогают обеспечивать при этом надлежащую защиту гомеостаза ЭР. Среди синтетических белков-шаперонов известны: 4-фенилмасляная кислота (PBA); таурин-конъюгированная урсодезоксихолевая кислота (TUDCA); транс-4,5-дигидрокси-1,2 дитиан (DTTox); вальпроат и другие [93-96].

В патологических условиях, где стресс ЭР является часто исходным и важным фактором, приводящим к ксенобиотиками индуцированной гепатотоксичности, профилактика стресса ЭР путем повышения уровня содержания молекул анфолдинг-протеинов может оказаться крайне полезной и необходимой. Например, избыточная масса тела может вызывать стресс ЭР, который в свою очередь играет важную роль в инсулинорезистентности и развитии диабета 2 типа через активацию IRE1/JNK сигнализации, участвующей в фосфорилировании субстрата рецептора инсулина 1 (IRS1) и приводящей к фосфорилированию тирозина инсулинового рецептора [99].

Влияние синтетических шаперонов PBA и TUDCA способствовало нормализации повышенных уровней глюкозы в крови у мышей с ожирением и диабетом на фоне разрешения существующего процесса печеночного стеатоза [97]. На модели ишемия-реперфузионного повреждения печени выявлены защитные свойства синтетического шаперона PBA через ингибирование развития ЭР стресс-индуцированного апоптоза гепатоцитов [98].

Выявлена возможность защиты макрофагов с помощью PBA от пальмитат-индуцированного стресса ЭР у экспериментальных животных (мыши) с атеросклеротическим процессом, нокаутных по ApoE -/- на фоне ожирения [100]. Оказалось, что синтетические шапероны обладают существенным потенциалом в контроле развития таких патологических состояний, при которых стресс ЭР играет роль медиатора повреждающих стимулов, в частности при диабете 2 типа, ишемия-реперфузионном повреждении печеночной ткани и атеросклерозе [97-100, 101].

Защитная функция вальпроата отмечена при развитии печеночного стеатоза благодаря механизму ингибирования процесса окисления жирных кислот [102], на фоне индукции экспрессии шаперонов (GPR78, GRP94), а также калретикулина в HepG2 клетках *in vitro* [103]. Воздействие синтетическим шапероном TUDCA тормозит активность IRE1 и PERK, а также защищает животных (крысы) от ишемия-реперфузионного повреждения после частичной гепатэктомии [101].

Повышение экспрессии клеточных шаперонов под влиянием DTTox в тубулярном эпителии проксимальных каналов почки после нефротоксиче-

ского воздействия TFEC (“1,1,2,2-тетрафлуороэтил-L-цистеина) подтверждает участие активации GRP78 в защите клеток ренального эпителия от стресса ЭР [104].

В целом, ряд механизмов участвуют в клеточных ответах и их адаптации к процессам фолдинга/анфолдинга молекул протеинов в различных компартментах клетки. Управление экспрессией и функцией протеинов может оказаться важным подспорьем в защите клеток от ксенобиотиков, а также в контроле процессов клеточного роста и дифференциации. В то время как “мягкие” и короткие стрессовые ЭР события поддерживают выживаемость клеточных сообществ, длительные и интенсивные ЭР стрессовые влияния приводят к развиту дисфункции и/или клеточной гибели.

Многие ксенобиотики являются модуляторами стресса эндоплазматического ретикулаума и анфолдинг-сигналикации, оказывая влияние как на клеточную выживаемость, так и на различные сценарии гибели клетки. Финальные события связаны со многими факторами, включающими механизм действия ксенобиотиков, уровень окислительного стресса, состояние клеточной дифференцировки. Углубленное изучение влияния ксенобиотиков на стресс ЭР и анфолдинг-сигналикацию при развитии гепатотоксичности необходимо для поиска её биомодуляторов — растительных продуктов и фитосредств природного происхождения.

Ацетаминофен-индуцированная гепатотоксичность, регулируемая Nrf2-зависимыми механизмами цитопротекции и её модуляция биоактивными соединениями растительного происхождения. Ацетаминофен, известный как парацетамол, является соединением обладающим мягким обезболивающим и жаропонижающим действием. Передозировка ацетаминофена быстро истощает запасы глутатиона (GSH) в печени, а его метаболиты приводят к гибели печеночных клеток. Активация адаптационных каскадов в клетке, в частности гормезиса (механизма стимуляции путей постстрессового выживания) в гепатоцитах является результатом продукции многочисленных цитопротективных протеинов (шаперонов, антиапоптотических белков, антиоксидантов, энзимов 2 фазы детоксикации) [105, 106].

Одним из специфических защитных сигнальных путей, рассматриваемых в плоскости механизма гормезиса в печени, является фактор ядерной транскрипции Nrf2 (“NF-E2-зависимый фактор 2”). Nrf2 присоединяется к высокоаффинному белку ARE (“antioxidant-responsive element”) и играет ключевую роль в инициации саморегуляции генов контроля редокс-зависимого статуса клетки, а также её защиты от окислительного стресса и индуцированной ксенобиотиками гепатотоксичности [107].

В интактной клетке Nrf2 взаимодействует с цитозольным белком-репрессором Keap 1 (“Kelch

FCN associating protein”) лимитирует Nrf2 медируемую генную экспрессию [108]. В клетках, незащищенных от окислительного стресса, Nrf2 освобождается от Keap 1 и транслоцируется в ядро, где активирует ARE-зависимую трансдукцию ферментов 2 фазы детоксикации и антиоксидантной защиты (глутатион-S трансфераза GST; глутатион пероксидаза, GPx; гемоксигеназа-1, HO-1) [107].

Детоксикация ацетаминофена осуществляется путем формирования сульфатных и глюкуроновых конъюгатов с глутатионом. Ацетаминофен метаболизируется в реактивный метаболит NAPQI (“N-acetyl-p-benzoquinoneimine”) цитохрома P450 (CYP). NAPQI обезвреживается глутатионом путем конъюгирования с последующей экскрецией. При истощении запасов глутатиона NAPQI аккумулируется в гепатоцитах и после присоединения к тиолсодержащим белкам формирует печеночный некроз [110]. Ковалентные связи между NAPQI и клеточными белками корректируют с высокой степенью гепатотоксичности. Поэтому контроль стресса конъюгации NAPQI, а также экскреции конъюгатов могут являться важными стратегиями управления гепатотоксичностью.

Уровни влияния фактора транскрипции Nrf2 включают синтез глутатиона, систему окислительного стресса, процесс конъюгирования молекул продуктов метаболизма ксенобиотиков, систему транспорта и экскреции метаболитов почками при участии высокоаффинного белка ARE для гепатопротекции.

В клетке в качестве прекурсора глутатиона применяется N-ацетилцистеин (NAC), который является антидотом ацетаминофена в высоких дозировках [III]. N-ацетилцистеин пополняет запасы глутатиона и усиливает процессы восстановления печеночной ткани. Однако из-за “узкого” терапевтического окна в восстановлении уровня GSH, N-ацетилцистеин не в состоянии полностью снизить уровень ацетаминофен-индуцированной гепатотоксичности [112].

Взаимодействие глутатиона и ацетаминофена происходит на реципрокной основе. Однако NAC восполняет недостаток глутатиона при передозировке ацетаминофена только на начальных этапах гепатотоксической реакции. Поэтому предложено использование S-аденозинметионина в качестве прекурсора глутатиона и альтернативы N-ацетилцистеину на поздних этапах развития ацетаминофеновой гепатотоксичности в клинике [113].

Так как продукция реактивного метаболита NAPQI происходит при участии системы CYP, в частности CYP 2E1, то использование ингибиторов энзиматической активности может супрессировать фоновую гепатотоксичность. Оказалось, что применение экстракта корейского красного корня женьшеня “ginseng” вызывает снижение экспрессии CYP 2E1, предупреждая развитие ацета-

минофен-индуцированный гепатотоксичности благодаря биоактивному компоненту гинсенозиду Rg3 [114]. Антагонист куринергического рецептора (A438079) предупреждал развитие ацетаминофен-индуцированного токсического повреждения печеночной ткани благодаря ингибированию активности р450 изоэнзима, а не за счет активации инфламмасом [115].

Появились свидетельства важной роли модуляторов факторов транскрипции в качестве кандидатов защиты от ацетаминофеновой гепатотоксичности. Так, олеановая кислота — природный три-терпен растительных продуктов (в т.ч. чебреца) тормозила токсические свойства ацетаминофена через Nrf2-зависимые и Nrf2-независимые механизмы цитопротекции [116].

Гинсенозид Rg3 — биоактивный компонент корня женьшеня отличается выраженными защитными свойствами против ацетаминофеновой токсичности из-за насыщения клетками глутатиона и координированной регуляции генов, ответственных за синтез GSH [117].

Экстракт листьев индийского растения "Izadirchta indica" эффективно тормозил процесс ацетаминофеновой гепатотоксичности благодаря регуляции Nalc-АТФ-азной активности и содержания GSH в цитозоле [118].

Механизмы торможения экспрессии CYP, повышения экспрессии детоксицирующих генов (GST, SOD, CAT) оказались характерными для экстрактов растений "Moringaoleifera" и "Tribulusterrestris", применяемых с целью торможения ацетаминофен-индуцированной гепатотоксичности у экспериментальных животных [119, 120].

В целом, биоактивные компоненты растительных продуктов могут оказаться эффективными кандидатами в ослаблении индуцированной ксенобиотиками гепатотоксичности. Необходимо проводить поиск новых растительных компонентов, дальнейший их предклинический скрининг и последующее изучение эффективности в рамках доказательной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Drug-induced oxidative stress in rat liver from a toxicogenomics perspective /M. McMillian, A. Nie, J.B. Parker [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2005. — №207 (2 Suppl). — P. 171–178.
2. Drug- and toxin-induced hepatotoxicity [Article in German] / F. Grünhage, H.P. Fischer, T. Sauerbruch [et al.] // *Z Gastroenterol.* — 2003. — №41(6). — P. 565–578.
3. Mechanisms of hepatotoxicity / H. Jaeschke, G.J. Gores, A.I. Cederbaum [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 2002. — №65(2). — P. 166–176.
4. Адрианов Н.В. Регуляция активности ферментных систем окисления чужеродных соединений / Н.В. Адрианов, В.Ю. Уваров // *Вестник АМН СССР.* — 1988. — №1. — С. 24–33.
5. Арчаков А.И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии / А.И. Арчаков, Н.Н. Карузина // *Вестник АМН СССР.* — 1988. — №1. — С. 14–23.
6. Lewis D.F. Evolution of the cytochrome P450 superfamily: sequence alignments and pharmacogenetics / D.F. Lewis, E. Watson, B.G. Lake // *Mutat. Res.* — 1998. — №410 (3). — P. 245–270.
7. Omiecinski C.J. Concise review of the cytochrome P450s and their roles in toxicology / C.J. Omiecinski, R.P. Remmel, V.P. Hosagrahara // *Toxicol. Sci.* — 1999. — №48 (2). — P. 151–156.
8. Hinson J.A. Phase II enzymes and bioactivation / J.A. Hinson, P.G. Forkert // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 1995. — №73 (10). — P. 1407–1413.
9. Lee W.M. Drug-induced hepatotoxicity/W.M. Lee // *N. Engl. J. Med.* — 2003. — №349 (5). — P. 474–485.
10. Sturgill M.G. Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function/ M.G. Sturgill, G.H. Lambert// *Clin. Chem.* — 1997. — №43 (8 Pt 2). — P. 1512–1526.
11. Pretreatment of colon carcinoma cells with Tomudex enhances 5-fluorouracil cytotoxicity / G.S. Longo, J. Izzo, Y.M. Chang [et al.]// *Clin. Cancer Res.* — 1998. — №4 (2). — P. 469–473.
12. Tanaka E. Clinically important pharmacokinetic drug-drug interactions: role of cytochrome P450 enzymes /E. Tanaka // *J. Clin. Pharm. Ther.* — 1998. — №23 (6). — P. 403–416.
13. Wolf C.R. Science, medicine, and the future: Pharmacogenetics /C.R. Wolf, G. Smith, R.L. Smith // *BMJ.* — 2000. — №320 (7240). — P. 987–990.
14. Wei C.Y. Pharmacogenomics of adverse drug reactions: implementing personalized medicine /C.Y. Wei, M.T. Lee, Y.T. Chen// *Hum. Mol. Genet.* — 2012. — №21 (R1). — P. R58-65. (Epub 2012 Aug 19).
15. Zimmerman H.J. Drug-induced liver disease /H.J. Zimmerman// *Clin. Liver Dis.* — 2000. — №4 (1). — P. 73–96.
16. Hussaini S.H. Idiosyncratic drug-induced liver injury: an update on the 2007 overview/S.H. Hussaini, E.A. Farrington // *Expert Opin. Drug Saf.* — 2014. — №13 (1). — P. 67–81.
17. Association between consumption of Herbalife nutritional supplements and acute hepatotoxicity / E. Elinav, G. Pinsky, R. Safadi [et al.] // *J. Hepatol.* — 2007. — №47 (4). — P. 514–520.
18. Lewis J.H. Drug-induced liver injury, dosage, and drug disposition: is idiosyncrasy really unpredictable? / J.H. Lewis // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* — 2014. — №12 (9). — P. 1556–1561.

19. Inhibition and induction of human cytochrome P450 (CYP) enzymes / O. Pelkonen, J. Mäenpää, P. Taavitsainen [et al.] // *Xenobiotica*. — 1998. — №28 (12). — P. 1203–1253.
20. Chemmanur A.T. Hepatic porphyrias: diagnosis and management/A.T. Chemmanur, H.L. Bonkovsky // *Clin. Liver Dis.* — 2004. — №8 (4). — P. 807–838, VIII.
21. Кривошеев А.В. Порфириновый обмен при хронических заболеваниях печени / А.В. Кривошеев, Б.Н. Кривошеев // *Тер.Архив*. — 1994. — №66 (2). — С. 17–38.
22. Brumbaugh D. Conjugated hyperbilirubinemia in children / D. Brumbaugh, C. Mack // *Pediatr. Rev.* — 2012. — №33 (7). — P. 291–302.
23. Apoptosis and necrosis in the liver /M.E. Guicciardi, H. Malhi, J.L. Mott [et al.] // *Compr. Physiol.* — 2013. — №3 (2). — P. 977–1010.
24. Залесский В.Н. Механизмы апоптоза при заболеваниях печени / В.Н. Залесский, Н.В. Великая // *Совр. пробл. токсикологии*. — 2003. — №1. — С. 11–17.
25. Guicciardi M.E. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression /M.E. Guicciardi, G.J. Gores // *Semin. Liver Dis.* — 2010. — №30 (4). — P. 402–410.
26. Kahraman A. Apoptosis in immune-mediated liver diseases / A. Kahraman, G.Gerken, A. Canbay // *Dig. Dis.* — 2010. — №28 (1). — P. 144–149.
27. Jaeschke H. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity / H. Jaeschke, M.R. McGill, A. Ramachandran // *Drug Metab. Rev.* — 2012. — №44 (1). — P. 88–106.
28. Diesen D.L. Nitric oxide and redox regulation in the liver: Part I. General considerations and redox biology in hepatitis /D.L. Diesen, P.C. Kuo// *J. Surg. Res.* — 2010. — №162 (1). — P. 95–109.
29. Diesen D.L. Nitric oxide and redox regulation in the liver: Part II. Redox biology in pathologic hepatocytes and implications for intervention /D.L. Diesen, P.C. Kuo // *J. Surg. Res.* — 2011. — №167 (1). — P. 96–112.
30. Feng S. Mechanism-based inhibition of CYP450: an indicator of drug-induced hepatotoxicity / S. Feng, X. He // *Curr. Drug Metab.* — 2013. — №14 (9). — P. 921–945.
31. Koen Y.M. Liver protein targets of hepatotoxic 4-bromophenol metabolites / Y.M. Koen, H. Hajovsky, K. Liu // *Chem. Res. Toxicol.* — 2012. — №25 (8). — P. 1777–1786.
32. Th2 cytokine-mediated methimazole-induced acute liver injury in mice /M. Kobayashi, S. Higuchi, M. Ide [et al.] // *J. Appl. Toxicol.* — 2012. — №32 (10). — P. 823–833.
33. Кравченко Н.А. Значение генетических факторов в развитии и прогрессировании печеночного стеатоза / Н.А. Кравченко, С.В. Виноградова // *Совр. пробл. токсикол.* — 2004. — №4. — С. 107–114.
34. Виноградова С.В. Молекулярно-генетические основы гепатотоксичности некоторых лекарственных препаратов / Н.А. Кравченко, С.В. Виноградова // *Совр. пробл. токсикол.* — 2007. — №3. — С. 30–38.
35. Acetaminophen hepatotoxicity and repair: the role of sterile inflammation and innate immunity / H. Jaeschke, C.D. Williams, A. Ramachandran [et al.]// *Liver Int.* — 2012. — №32 (1). — P. 8–20.
36. Szabo G. Mechanisms of alcohol-mediated hepatotoxicity in human-immunodeficiency-virus-infected patients / G. Szabo, S. Zakhari // *World J. Gastroenterol.* — 2011. — №17 (20). — P. 2500–2506.
37. Liver diseases associated with anti-tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) use for inflammatory bowel disease /C.S. Coffin, H.F. Fraser, R. Panaccione [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* — 2011. — №17(1). — P. 479–484.
38. General mechanisms of nicotine-induced fibrogenesis /K. Jensen, D. Nizamutdinov, M. Guerrier [et al.] // *FASEB J.* — 2012. — №26 (12). — P. 4778–4787.
39. Spector L.G. The epidemiology of hepatoblastoma / L.G. Spector, J. Birch // *Pediatr. Blood Cancer.* — 2012. — №59 (5). — P. 776–779.
40. Robertson G. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. II. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress / G. Robertson, I. Leclercq, G.C. Farrell // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2001. — №281 (5). — P. G1135–1139.
41. Guo B. Endoplasmic reticulum stress in hepatic steatosis and inflammatory bowel diseases / B. Guo, Z.Li // *Front. Genet.* — 2014. — №5. — P. 242.
42. Mesitov M.V. Molecular logic of the endoplasmic reticulum stress signal pathways: the system of unfolded protein response [Article in Russian] / M.V. Mesitov, A.A. Moskovtsev, A.A. Kubatiev // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* — 2013. — № 4. — P. 97–108.
43. Kaufman R.J. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls / R.J. Kaufman // *Genes. Dev.* — 1999. — №13 (10). — P. 1211–1233.
44. Xu C. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions / C. Xu, B. Bailly-Maitre, J.C. Reed // *J. Clin. Invest.* — 2005. — №115 (10). — P. 2656–2664.
45. Smith M.H. Road to ruin: targeting proteins for degradation in the endoplasmic reticulum / M.H. Smith, H.L. Ploegh, J.S.Weissman // *Science*. — 2011. — №334 (6059). — P. 1086–1090.
46. Malhotra J.D. The endoplasmic reticulum and the unfolded protein response / J.D. Malhotra, R.J. Kaufman // *Semin. Cell Dev. Biol.* — 2007. — №18 (6). — P. 716–731.

47. Endoplasmic reticulum stress and liver injury /N. Kaplowitz, T.A. Than, M. Shinohara [et al.] // *Semin. Liver Dis.* — 2007. — №27 (4). — P. 367–377.
48. Kim I. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities / I. Kim, W. Xu, J.C. Reed // *Nat. Rev. Drug Discov.* — 2008. — №7. — P. 1013–1030.
49. Anckar J. Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease / J. Anckar, L.Sistonen // *Annu. Rev. Biochem.* — 2011. — №80. — P. 1089–1115.
50. Fujimoto M. The heat shock factor family and adaptation to proteotoxic stress / M. Fujimoto, A. Nakai // *FEBS J.* — 2010. — №277 (20). — P. 4112–4125.
51. Heterotrimerization of heat-shock factors 1 and 2 provides a transcriptional switch in response to distinct stimuli /A. Sandqvist, J.K. Björk, M. Akerfelt [et al.] // *Mol. Biol. Cell.* — 2009. — №20 (5). — P. 1340–1347.
52. Evidence for a mechanism of repression of heat shock factor 1 transcriptional activity by a multichaperone complex / Y. Guo, T. Guettouche, M. Fenna [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2001. — №276 (49). — P. 45791–45799.
53. RNA-mediated response to heat shock in mammalian cells / I. Shamovsky, M. Ivannikov, E.S. Kandel [et al.] // *Nature.* — 2006. — №440 (7083). — P. 556–560.
54. Haynes C.M. The mitochondrial UPR — protecting organelle protein homeostasis / C.M. Haynes, D. Ron // *J. Cell Sci.* — 2010. — №123 (Pt 22). — P. 3849–3855.
55. Tatsuta T. Quality control of mitochondria: protection against neurodegeneration and ageing / T. Tatsuta, T. Langer // *EMBO J.* — 2008. — №27 (2). — P. 306–314.
56. Neupert W. Translocation of proteins into mitochondria / W. Neupert, J.M. Herrmann // *Annu. Rev. Biochem.* — 2007. — №76. — P. 723–749.
57. ClpP mediates activation of a mitochondrial unfolded protein response in *C. elegans* /C.M. Haynes, K. Petrova, C. Benedetti [et al.] // *Dev. Cell.* — 2007. — №13 (4). — P. 467–480.
58. HSP72 protects cells from ER stress-induced apoptosis via enhancement of IRE1 α -XBP1 signaling through a physical interaction /S. Gupta, A. Deepti, S. Deegan [et al.] // *PLoS Biol.* — 2010. — №8 (7). — P.e1000410.
59. Ota A. Cdc37/Hsp90 protein-mediated regulation of IRE1 α protein activity in endoplasmic reticulum stress response and insulin synthesis in INS-1 cells / A. Ota, Y. Wang // *J. Biol. Chem.* — 2012. — №287 (9). — P. 6266–6274.
60. Harding H.P. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase / H.P. Harding, Y. Zhang, D. Ron // *Nature.* — 1999. — №397 (6716). — P. 271–274.
61. Regulated Ire1-dependent decay of messenger RNAs in mammalian cells / J. Hollien, J.H. Lin, H. Li [et al.] // *J. Cell Biol.* — 2009. — №186 (3). — P. 323–331.
62. Substrate-specific translocational attenuation during ER stress defines a pre-emptive quality control pathway /S.W. Kang, N.S. Rane, S.J. Kim [et al.] // *Cell.* — 2006. — №127 (5). — P. 999–1013.
63. Cotranslocational degradation protects the stressed endoplasmic reticulum from protein overload / S. Oyadomari, C. Yun, E.A. Fisher [et al.] // *Cell.* — 2006. — №126 (4). — P. 727–739.
64. Translational repression mediates activation of nuclear factor kappa B by phosphorylated translation initiation factor 2 /J. Deng, P.D. Lu, Y. Zhang [et al.] // *Mol. Cell Biol.* — 2004. — №24 (23). — P. 10161–10168.
65. Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival /S.B. Cullinan, D. Zhang, M. Hannink [et al.] // *Mol. Cell Biol.* — 2003. — №23 (20). — P. 7198–7209.
66. Ma Y. Delineation of a negative feedback regulatory loop that controls protein translation during endoplasmic reticulum stress / Y. Ma, L.M. Hendershot // *J. Biol. Chem.* — 2003. — №278 (37). — P. 34864–34873.
67. A selective inhibitor of eIF2 α dephosphorylation protects cells from ER stress /M. Boyce, K.F. Bryant, C. Jousse [et al.] // *Science.* — 2005. — №307 (5711). — P. 935–939.
68. Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6 α and XBP1 / K. Yamamoto, T. Sato, T. Matsui [et al.] // *Dev. Cell.* — 2007. — №13 (3). — P. 365–376.
69. The transcription factor CHOP, a central component of the transcriptional regulatory network induced upon CCl₄ intoxication in mouse liver, is not a critical mediator of hepatotoxicity /G. Campos, W. Schmidt-Heck, A. Ghallab [et al.] // *Arch. Toxicol.* — 2014. — №88 (6). — P. 1267–1280.
70. Glover-Cutter K.M. Integration of the unfolded protein and oxidative stress responses through SKN-1/Nrf / K.M. Glover-Cutter, S. Lin, T.K. Blackwell // *PLoS Genet.* — 2013. — №9 (9). — P. e1003701.
71. Mitochondrial calcium signaling driven by the IP3 receptor / G. Hajnóczky, G. Csordás, R. Krishnamurthy [et al.] // *J. Bioenerg. Biomembr.* — 2000. — №32 (1). — P. 15–25.
72. Michelangeli F. A diversity of SERCA Ca²⁺ pump inhibitors / F. Michelangeli, J.M.East // *Biochem. Soc. Trans.* — 2011. — №39 (3). — P. 789–797.
73. Ca²⁺ transfer from the ER to mitochondria: when, how and why /R. Rizzuto, S. Marchi, M. Bonora [et al.] // *Biochim Biophys. Acta.* — 2009. — 1787(11). — P. 1342–1351.

74. Shore G.C. Signaling cell death from the endoplasmic reticulum stress response / G.C. Shore, F.R. Papa, S.A. Oakes // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 2011. — №23 (2). — P. 143–149.
75. Kurokawa M. Caspases and kinases in a death grip / M. Kurokawa, S. Kornbluth // *Cell.* — 2009. — №138 (5). — P. 838–854.
76. Rasola A. Mitochondrial permeability transition in Ca²⁺-dependent apoptosis and necrosis / A. Rasola, P. Bernardi // *Cell Calcium.* — 2011. — №50 (3). — P. 222–233.
77. Giam M. BH3-only proteins and their roles in programmed cell death / M. Giam, D.C. Huang, P. Bouillet // *Oncogene.* — 2008. — 27Suppl 1. — P. S128–136.
78. BCL-2, BCL-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis / E.H. Cheng, M.C. Wei, S. Weiler [et al.] // *Mol. Cell.* — 2001. — №8 (3). — P. 705–711.
79. Bax inhibitor-1: a highly conserved endoplasmic reticulum-resident cell death suppressor / T. Ishikawa, N. Watanabe, M. Nagano [et al.] // *Cell Death Differ.* — 2011. — №18 (8). — P. 1271–1278.
80. BI-1 regulates an apoptosis pathway linked to endoplasmic reticulum stress / H.J. Chae, H.R. Kim, C. Xu [et al.] // *Mol. Cell.* — 2004. — №15 (3). — P. 355–366.
81. Bax inhibitor 1 in apoptosis and disease / K.S. Robinson, A. Clements, A.C. Williams [et al.] // *Oncogene.* — 2011. — №30 (21). — P. 2391–2400.
82. Brancolini C. Inhibitors of the Ubiquitin-Proteasome System and the cell death machinery: How many pathways are activated? (Review) / C. Brancolini // *Curr. Mol. Pharmacol.* — 2008. — №1 (1). — P. 24–37.
83. Tunicamycin inhibits capillary endothelial cell proliferation by inducing apoptosis. Targeting dolichol-pathway for generation of new anti-angiogenic therapeutics (Review) / J.A. Martinez, I. Torres-Negrin, L.A. Amigó [et al.] // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2000. — №476. — P. 197–208.
84. Vitamin B12b enhances the cytotoxicity of dithiothreitol / M.E. Solovieva, V.V. Solovyev, A.A. Kudryavtsev [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* — 2008. — №44 (10). — P. 1846–1856.
85. Two death pathways induced by sorafenib in myeloma cells: Puma-mediated apoptosis and necroptosis / A. Ramirez-Labrada, N. Lopez-Royuela, V. Jarauta [et al.] // *Clin. Transl. Oncol.* — 2014. — [Epub ahead of print].
86. In the Huh7 Hepatoma Cells Diclofenac and Indomethacin Activate Differently the Unfolded Protein Response and Induce ER Stress Apoptosis/ S. Franceschelli, O. Moltedo, G. Amodio [et al.] // *Open Biochem. J.* — 2011. — №5. — P. 45–51.
87. Schönthal A.H. Endoplasmic reticulum stress: its role in disease and novel prospects for therapy / A.H. Schunthal // *Scientifica (Cairo).* — 2012. — 2012. — P. 857516.
88. Frankland-Searby S. The 26S proteasome complex: an attractive target for cancer therapy / S. Frankland-Searby, S.R. Bhaumik // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2012. — №1825 (1). — P. 64–76.
89. Bortezomib sensitizes pancreatic cancer cells to endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis / S.T. Nawrocki, J.S. Carew, M.S. Pino [et al.] // *Cancer Res.* — 2005. — №65 (24). — P. 11658–11666. (Erratum in: *Cancer Res.* 2009 Feb 15; №69 (4) — P. 1695).
90. HIV-1 protease inhibitors nelfinavir and atazanavir induce malignant glioma death by triggering endoplasmic reticulum stress / P. Pyrko, A. Kardosh, W. Wang [et al.] // *Cancer Res.* — 2007. — №67 (22). — P. 10920–10928.
91. Human immunodeficiency virus protease inhibitors modulate Ca²⁺ homeostasis and potentiate alcoholic stress and injury in mice and primary mouse and human hepatocytes / E. Kao, M. Shinohara, M. Feng [et al.] // *Hepatology.* — 2012. — №56 (2). — P. 594–604.
92. The chemical chaperon 4-phenylbutyric acid ameliorates hepatic steatosis through inhibition of de novo lipogenesis in high-fructose-fed rats / L.P. Ren, G.Y. Song, Z.J. Hu [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* — 2013. — №32 (5). — P. 1029–1036.
93. Changes in hepatic gene expression upon oral administration of taurine-conjugated ursodeoxycholic acid in ob/ob mice / J.S. Yang, J.T. Kim, J. Jeon [et al.] // *PLoS One.* — 2010. — №5 (11). — P. e13858.
94. Valproic acid-mediated Hsp70 induction and anti-apoptotic neuroprotection in SH-SY5Y cells / T. Pan, X. Li, W. Xie [et al.] // *FEBS Lett.* — 2005. — №579 (30). — P. 6716–6720.
95. Asmellash S. Modulating the endoplasmic reticulum stress response with trans-4,5-dihydroxy-1,2-dithiane prevents chemically induced renal injury in vivo / S. Asmellash, J.L. Stevens, T. Ichimura // *Toxicol. Sci.* — 2005. — №88 (2). — P. 576–584.
96. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes / U. Ozcan, E. Yilmaz, L. Ozcan [et al.] // *Science.* — 2006. — №313 (5790). — P. 1137–1140.
97. Sodium 4-phenylbutyrate protects against liver ischemia reperfusion injury by inhibition of endoplasmic reticulum-stress mediated apoptosis / M. Vilatoba, C. Eckstein, G. Bilbao [et al.] // *Surgery.* — 2005. — №138 (2). — P. 342–351.
98. Eizirik D.L. Signalling danger: endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in pancreatic islet inflammation / D.L. Eizirik, M. Miani, A.K. Cardozo // *Diabetologia.* — 2013. — №56 (2). — P. 234–241.
99. Reducing endoplasmic reticulum stress through a macrophage lipid chaperone alleviates atherosclerosis / E. Erbay, V.R. Babaev, J.R. Mayers [et al.] // *Nat. Med.* — 2009. — №15 (12). — P. 1383–1391.
100. Endoplasmic reticulum stress inhibition protects steatotic and non-steatotic livers in partial hepatectomy

- under ischemia-reperfusion / I. Ben Mosbah, I. Alfany-Fernández, C. Martel [et al.] // Cell Death Dis. — 2010. — №1. — P.e52.
101. Inhibition of hepatic carnitine palmitoyl-transferase I (CPT IA) by valproyl-CoA as a possible mechanism of valproate-induced steatosis / C.C. Aires, L. Ijlst, F. Stet [et al.] // Biochem. Pharmacol. — 2010. — №79 (5). — P. 792–799.
102. Kim A.J. Valproate protects cells from ER stress-induced lipid accumulation and apoptosis by inhibiting glycogen synthase kinase-3/ A.J. Kim, Y. Shi, R.C. Austin // J. Cell Sci. — 2005. — №118 (Pt 1). — P. 89–99.
103. Calabrese E.J. Hormesis and the law: introduction / E.J. Calabrese // Hum. Exp. Toxicol. — 2008. — №27 (2). — P. 95–96.
104. Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger (Review. Spanish) / N.E. Lopez-Diazguerrero, V.Y. Gonzalez Puertos, R.J. Hernández-Bautista [et al.] // Gac. Med. Mex. — 2013. — №149 (4). — P. 438–447.
105. Lee J.M. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. Review / J.M. Lee, J.A. Johnson // J. Biochem. Mol. Biol. — 2004. — №37 (2). — P. 139–143.
106. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain / K. Itoh, N. Wakabayashi, Y. Katoh [et al.] // Genes Dev. — 1999. — №13 (1). — P. 76–86.
107. Nguyen T. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element / T. Nguyen, P.J. Sherratt, C.B. Pickett // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 2003. — №43. — P. 233–260.
108. Effects of N-acetylcysteine on acetaminophen covalent binding and hepatic necrosis in mice / G.B. Corcoran, W.J. Racz, C.V. Smith [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1985. — №232 (3). — P. 864–872.
109. Kanter M.Z. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning Review / M.Z. Kanter // Am. J. Health Syst. Pharm. — 2006. — №63 (19). — P. 1821–1827.
110. Activation of hepatic Nrf2 in vivo by acetaminophen in CD-1 mice / C.E. Goldring, N.R. Kitteringham, R. Elsby [et al.] // Hepatology. — 2004. — №39 (5). — P. 1267–1276.
111. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine /S. Parcell// Altern. Med. Rev. — 2002. — №7 (1). — P. 22–44.
112. Gum S.I. Korean red ginseng extract prevents APAP-induced hepatotoxicity through metabolic enzyme regulation: the role of ginsenoside Rg3, a protopanaxadiol / S.I. Gum, M.K. Cho // Liver Int. — 2013. — №33 (7). — P. 1071–1084.
113. Purinergic receptor antagonist A438079 protects against acetaminophen-induced liver injury by inhibiting p450 isoenzymes, not by inflammasome activation / Y. Xie, C.D. Williams, M.R. McGill [et al.] // Toxicol. Sci. — 2013. — №131 (1). — P. 325–335.
114. Reisman S.A. Oleanolic acid activates Nrf2 and protects from acetaminophen hepatotoxicity via Nrf2-dependent and Nrf2-independent processes / S.A. Reisman, L.M. Aleksunes, C.D. Klaassen // Biochem. Pharmacol. — 2009. — №77 (7). — P. 1273–1282.
115. Gum S.I. The amelioration of N-acetyl-p-benzoquinone imine toxicity by ginsenoside Rg3: the role of Nrf2-mediated detoxification and Mrp1/Mrp3 transports /S.I. Gum, M.K. Cho// Oxid. Med. Cell Longev. — 2013. — 2013. — P. 957947.
116. Chattopadhyay R.R. Possible mechanism of hepatoprotective activity of Azadirachta indica leaf extract: part II / R.R. Chattopadhyay // J. Ethnopharmacol. — 2003. — №89 (2-3). — P. 217–219.
117. Fakurazi S. Moringa oleifera hydroethanolic extracts effectively alleviate acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats through their antioxidant nature / S. Fakurazi, S.A. Sharifudin, P. Arulselvan // Molecules. — 2012. — №17 (7). — P. 8334–8350.
118. Hepatoprotective activity of Tribulus terrestris extract against acetaminophen-induced toxicity in a freshwater fish (Oreochromis mossambicus) / P. Kavitha, R. Ramesh, G. Bupesh [et al.] // In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. — 2011. — №47 (10). — P. 698–706.

Гепатотоксичність: роль порушень регуляції активації/пригнічення процесів стресу ендоплазматичного ретикулуму та анфолдинг-сигналізації в механізмі розвитку гепатотоксичності, індукованої ксенобіотиками. Ацетамінофен-індуковане ушкодження печінки та її модуляція біоактивними сполуками рослинного походження

Н.В. Велика¹, С.Т. Омельчук¹, В.М. Залеський²,

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ,

²Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска» НАМНУ, м. Київ

Резюме. Гепатотоксичність, індукована ксенобіотиками в умовах клітинного стресу, є серйозною проблемою для клініцистів. Стрес ендоплазматичного ретикулуму (ЕР) є центральним ланцюгом багатьох генетичних та надбаних захворювань людини, а також ключовим фактором підтримки білкового гомеостазу клітин. Притаманне білкам згортання (фолдинг), розгортання (анфолдинг), а також збереження їх молекул є високорегульованими процесами клітинного гомеостазу. Структури клітинного компартменту пристосовують ці процеси під задачі, пов'язані з забезпеченням фолдингу власних білків та контролю участі стресу ЕР у накопиченні розгорнутих (анфолдинг) білків. Коли

накопичення анфолдинг білків досягає критичних рівнів відбувається відновлення гомеостазу шляхом індукції апоптотичного сценарію клітинної загибелі. Накопичення розгорнутих білків у ергастоплазмі призводить до стресу ER та посилення процесу анфолдингу молекул білка (UPR), завдяки активації ATF6, IRE1 та PERK сигнальних каскадів. Численні ксенобіотики виявляють вплив на стрес ER та UPR сигналізацію на тлі уповільнення або прискорення апоптозу. Порушення регуляції активації (пригнічення стресу ER та UPR) сигналізації у клітині є найважливішими параметрами для розуміння механізмів гепатотоксичності, індукованої ксенобіотиками. У роботі також представлені дані про механізм ацетамінофен-індукованої гепатотоксичності, регульованої білком Nrf2, та її модуляція біоактивними сполуками рослинного походження.

Ключові слова: ксенобіотики, гепатотоксичність, стрес ендоплазматичного ретикулуму, апоптоз, біоактивні сполуки рослинного походження.

Hepatotoxicity: the role of regulation violations activation / suppression processes of endoplasmic reticulum stress and an folding signaling in the mechanism of hepatotoxicity induced by xenobiotics. Acetaminophen-induced liver injury and its modulation of bioactive compounds of plant origin

N. Velikaya¹, S. Omelchuk¹, V. Zalessky²

¹Bohomolets National Medical University

²National Scientific Center "M.D. Strazhesko Institute of Cardiology" NAMS of Ukraine, Kyiv

Summary. Induction hepatotoxicity of xenobiotics under cell stress is a major challenge to physicians. Endoplasmic reticulum (ER) stress has been implicated in variety genetic and other diseases, and plays critical roles in maintaining protein homeostasis of the cells. The proper folding, unfolding, and maintenance of cellular proteins are highly regulated processes and are critical for homeostasis. Multiple cellular compartments have adapted its own systems to ensure proper protein folding and quality control mechanisms are in place to manage stress due to the accumulation of unfolded protein. When the accumulation of unfolded proteins exceeds the capacity to restore homeostasis these systems can result in a cell death response. Unfolded protein accumulation in the ER leads to ER stress with activation of the unfolded protein response (UPR) governed by the activating ATF6, IRE1 and PERK signaling pathway. Many xenobiotics have been shown to influence ER stress and UPR signaling with either pro-survival or pro-death features. Assessing perturbation of regulation in activation or inhibition of ER stress and UPR signaling pathways are likely to be informative parameters to measure when analyzing the action of xenobiotic induced toxicity. This review provides an update of acetaminophen hepatotoxicity (regulated protein Nrf2) and modulation of hepatotoxicity bioactive components of natural products.

Key words: xenobiotics, hepatotoxicity, endoplasmic reticulum stress, apoptosis, bioactive components of natural products.

Надійшла до редакції 19.01.2015 р.