

Оксидативный стресс и антиоксиданты при заболеваниях печени

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) относится к наиболее часто встречающимся опухолям во всех странах мира. ГЦК занимает 5-е место по распространенности среди злокачественных новообразований и 3-е место среди причин онкологической смертности. С развитием ГЦК связано множество различных этиологических факторов, из них основные – хронический вирусный гепатит В и С и длительное воздействие афлатоксина В₁.

Вирус гепатита В (HBV) является значимым этиологическим фактором развития таких заболеваний, как стеатоз и цирроз печени, гепатоцеллюлярная аденома и ГЦК. Риск развития ГЦК у хронических носителей HBV более чем в 100 раз выше по сравнению с неинфицированными лицами. В 2000 г. в мире было диагностировано 564 300 новых случаев ГЦК, более 80% из них – в развивающихся странах. В целом 80-90% случаев ГЦК возникает на фоне цирроза печени. После 20-30 лет хронической HBV-инфекции у 20-30% пациентов развивается цирроз печени. Вероятность появления ГЦК у HBV-инфицированных больных составляет 3-8% в год.

При хроническом течении инфекции фрагменты ДНК HBV случайным образом встраиваются в ДНК хозяина. Многие из этих интегрированных фрагментов кодируют белок Х вируса гепатита В (HBx) и усеченные preS-полипептиды. HBx и HBs считаются основными белками, вовлеченными в HBV-индуцированный гепатоканцерогенез.

ГЦК также является частым осложнением алкогольного цирроза, хотя этанол и не оказывает непосредственного канцерогенного действия на клетки печени.

Оксидативный стресс

Оксидативным стрессом называют нарушение окислительно-антиоксидантного баланса, которое может вызывать повреждение клеток. Большинство клеток способны переносить легкие степени оксидативного стресса благодаря антиоксидантной защите и системам репарации, которые распознают и устраняют молекулы, поврежденные окислением. Этот процесс может нарушаться вследствие снижения антиоксидантной способности, вызванного дисбалансом продукции и распределения антиоксидантов и чрезмерным накоплением активных форм кислорода (АФК). АФК являются потенциальными канцерогенами, влияя на мутагенез, промoцию и прогрессирование опухолей. В условиях дисрегуляции избыточные уровни АФК могут повреждать липиды, белки и ДНК, что приводит к нарушению нормального функционирования клетки. АФК-индуцированные нарушения в различных сигнальных путях модулируют экспрессию генов, адгезию и метаболизм клеток, клеточный цикл и клеточную смерть. Эти процессы могут вызывать окислительное повреждение ДНК, что, в свою очередь, повышает вероятность хромосомных aberrаций, ассоциированных со злокачественной трансформацией клеток.

АФК могут активировать сигнальные пути клетки, опосредованные такими молекулами, как митогенактивируемая протеинкиназа (МАРК), ядерный фактор каппа В (NF-κB), фосфатидилинозитол-3-киназа (PI3K), p53, β-катенин/Wnt, и ассоциированные с ангиогенезом. HBx стимулирует активность МАРК, NF-κB, β-катенина и других молекул, предположительно участвующих в развитии ГЦК.

Таким образом, становится понятно, почему HBV-инфицированные пациенты с хронической болезнью печени (ХБП) имеют высокий риск развития ГЦК в отличие от бессимптомных носителей HBV.

Оксидативный стресс при ХБП и фиброзе печени

В многочисленных исследованиях *in vitro* и *in vivo* было продемонстрировано, что оксидативный стресс и ассоциированное повреждение могут выступать общим механизмом патогенеза при различных формах ХБП и печеночного фиброза. В частности, оксидативный стресс, вызывающий перекисное окисление липидов (ПОЛ), является одним из главных факторов развития и прогрессирования неалкогольного стеатогепатита и рака печени. Вызывая ПОЛ, вирусные инфекции и злоупотребление алкоголем резко повышают уровни дефектных ДНК, таких как 1,N(6)-этно-2'-дезоксиаденозин (эпсилон-dA). У пациентов с хроническим гепатитом, циррозом печени и ГЦК, ассоциированными с HBV-инфекцией, уровни эпсилон-dA в моче более чем в 20 раз превышают таковые у неинфицированных лиц, не страдающих заболеваниями печени.

HBV-инфекция и оксидативный стресс

В экспериментах на HBV-трансгенных мышках и в исследованиях *in vitro* на линиях клеток, зараженных ДНК HBV, было показано, что HBV может индуцировать оксидативный стресс. У пациентов с ХБП, инфицированных HBV, уровни оксидативного стресса резко повышены. У трансгенных мышак, продуцирующих в больших количествах и накапливающих внутриклеточно HBsAg, оксидативный стресс предшествовал развитию ГЦК. В многочисленных исследованиях также установлено, что общий уровень пероксидов (маркер оксидативного стресса) значительно выше у больных хроническим гепатитом по сравнению с бессимптомными носителями HBV. Прямая корреляция этого показателя с уровнями аланинаминотрансферазы (АЛТ) указывает на то, что оксидативный стресс играет ключевую роль в повреждении печени.

Основным источником АФК являются митохондрии. АФК могут образовываться при утечке электрона из митохондриальной дыхательной цепи. HBx оказывает непосредственный эффект на митохондрии, взаимодействуя с вольтажзависимым анионным каналом-3, что в итоге приводит к нарушению потенциала митохондриальных мембран и повышению уровней эндогенных АФК. Кроме того, экспрессия HBx индуцирует оксидативный стресс через кальциевый сигнальный каскад и активирует клеточные киназы, вызывая активацию факторов транскрипции NF-κB, преобразователя сигналов и активатора транскрипции-3 и других путем их фосфорилирования. Наблюдения показывают, что HBV-индуцированный оксидативный стресс стимулирует транслокацию митогенактивируемой киназы Raf-1 в митохондрии; этот процесс осуществляется путем Src- и RAK-опосредованного фосфорилирования активирующего домена Raf-1. В клеточной линии гепатобластомы человека HepG2 белок HBx индуцировал ПОЛ через понижающую регуляцию экспрессии SeP, что сопровождалось повышением экспрессии фактора некроза опухоли альфа (TNFα).

У пациентов с длительно персистирующим вирусным гепатитом резко снижается

активность антиоксидантных ферментов CuZn-супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы. Повышенные уровни малонового диальдегида (продукта ПОЛ) у больных с хронической HBV-инфекцией свидетельствуют о повышенном оксидативном стрессе в этой популяции. После лечения интерфероном α и ламивудином пациентов с вирусным гепатитом В концентрация ПОЛ у них снижалась, а уровни антиоксидантных ферментов повышались по сравнению с таковыми до лечения.

Патогенез алкогольиндуцированного оксидативного стресса

На сегодня доказано, что хроническое употребление алкоголя ассоциируется с прогрессирующим повреждением печени. Метаболизм этанола осуществляется преимущественно в печени, следовательно, этот орган больше всего страдает от избыточного поступления алкоголя. При алкогольной болезни печени важную роль в патогенезе повреждения печени играют свободные радикалы. Острый и хронический прием алкоголя увеличивает продукцию АФК, снижает уровни антиоксидантов и повышает оксидативный стресс во многих тканях (особенно в печени), а также вызывает аккумуляцию цистеина – предшественника и метаболита глутатиона в печени, – вероятно, вследствие индукции γ-глутамилтранспептидазы. Ацетальдегид, образующийся при окислении алкоголя, подавляет репарацию алкилированных нуклеопротеидов, снижает активность ряда ферментов и повреждает митохондрии. Кроме того, ацетальдегид может вызвать клеточную смерть вследствие истощения запасов восстановленного глутатиона, активизации ПОЛ и увеличения токсических эффектов свободных радикалов. Также доказано, что ацетальдегид оказывает непосредственное стимулирующее действие на пролиферацию звездчатых клеток и синтез коллагена в печени.

Хроническое употребление алкоголя подавляет функцию митохондрий. Появление фрагментов ДНК в лимфоцитах периферической крови отражает прямой генотоксический эффект алкоголя, HBV и/или HCV и указывает на то, что такой же эффект может производиться и на печень, способствуя таким образом канцерогенезу.

Алкоголь метаболизируется в митохондриях под действием CYP2E1. Культивирование клеток VL-17A (клеток ГЦК человека, гиперэкспрессирующих алкогольдегидрогеназу и CYP2E1) с этанолом сопровождалось повышением экспрессии CYP2E1 и снижением активности ферментов, фрагментирующих антигены (в частности, пептидазы протеасом и лейциновой пептидазы). Этот эффект может в итоге приводить к снижению HLA-I-опосредованной презентации антигенов на инфицированных вирусами клетках печени.

Алкогольиндуцированное воспаление и врожденный ответ клеток Купфера на повышение в плазме уровней эндотоксина кишечных бактерий способствуют АФК-опосредованному повреждению печени, при этом профиброгенные факторы, такие как ацетальдегид и продукты ПОЛ, вызывают активацию звездчатых клеток. Под действием фиброгенных стимулов, в данном случае алкоголя, эти клетки трансформируются в активированные коллагенпродуцирующие.

В последнее время появляется все больше данных о синергическом действии

алкоголя и гепатотропных вирусов в генерировании оксидативного стресса. В одном из экспериментальных исследований мышей линии C57BL/6J (контроль) и HBx-трансгенных мышак в возрасте 8 мес кормили жидкой пищей с добавлением воды или 25% этанола на протяжении 12 нед. Уровни глутаматоксалаатрансферазы (ГОТ) и глутаматпируваттрансферазы (ГПТ), являющиеся маркерами повреждения печени, были повышенными у мышак обеих групп (C57BL/6J и HBx), получавших этанол, чего не наблюдалось у животных, в состав пищи которых этанол не входил. Однако у HBx-трансгенных мышак уровни ГОТ и ГПТ были значительно выше по сравнению с мышами линии C57BL/6J. Это свидетельствует о том, что у HBx-трансгенных мышак этанол вызывал более глубокое повреждение печени, чем у животных контрольной группы. Гистологическое исследование подтвердило эти данные: тяжелое повреждение печени под действием этанола наблюдалось только у HBx-трансгенных мышак. Гиперпластические узлы у животных этой группы чаще встречались при употреблении этанола. У мышак линии C57BL/6J этанол вызывал легкий стеатоз, в то время как у HBx-трансгенных животных – тяжелый стеатоз и гепатомегалию. Таким образом, даже умеренное употребление алкоголя в присутствии гена HBx индуцировало оксидативный стресс и повреждение печени.

Антиоксидантные ферменты и снижение оксидативного стресса

Вследствие того что образование АФК является естественным процессом, а высокие уровни АФК могут оказывать повреждающее действие, человеческий организм выработал антиоксидантные системы, направленные на их нейтрализацию. В защите клеток от АФК принимает участие множество ферментных и неферментных механизмов, включая СОД и глутатионпероксидазу, инактивирующих соответственно супероксидный ион и пероксиды. Церулоплазмин и ферритин помогают выводить металлы, в частности железо, которое способствует окислительным реакциям. Существуют также неферментные низкомолекулярные антиоксиданты, такие как глутатион, витамины А, Е и С, убиноин, мочевая кислота и билирубин.

CuZn-СОД находится в цитозоле и пространстве между внутренней и внешней мембранами митохондрий, а Mg-содержащая СОД – в митохондриальном матриксе. Оба фермента играют ключевую роль в предотвращении АФК-индуцированной токсичности.

Каталаза обнаруживается в основном в пероксисомах; этот фермент катализирует реакцию между двумя молекулами H₂O₂ с образованием воды и O₂. Кроме того, каталаза облегчает взаимодействие H₂O₂ с донаторами водорода, вследствие чего из H₂O₂ образуется одна молекула воды, а восстановленные донаторы становятся окисленными (пероксилирующая активность каталазы).

Семейство пероксиредоксинов (Prx) обладает способностью деградировать H₂O₂ *in vitro* и *in vivo*. Все Prx содержат сохраненный цистеиновый (Cys) остаток, включющийся в цикл пероксидзависимого окисления и тиолзависимого восстановления во время катализа. Клетки млекопитающих экспрессируют шесть изоформ Prx (Prx I-VI), классифицируемых на три подгруппы (2-Cys, атипичные

2-Cys и 1-Cys) в зависимости от позиции цистеинового остатка, участвующего в катализе. Prx I и Prx II находятся в цитозоле, Prx III – в митохондриях; Prx IV является секретруемым белком; Prx V экспрессируется убиквитарно и обладает антиоксидантной активностью, эквивалентной таковой каталазы. Prx IV, располагающийся преимущественно в цитозоле, является единственным пероксиредоксином, взаимодействующим не с глутатионом, а с тиоредоксином.

Антиоксидантная терапия при ХБП

Оксидантный стресс играет ведущую роль в HBV- и алкогольиндуцированном повреждении печени. Существует несколько возможных стратегий, позволяющих предотвратить этот стресс, в частности назначение антиоксидантов в дополнение к противовирусным препаратам у пациентов с хроническим гепатитом В.

Куркуминоиды

Куркуминоиды, являющиеся основным желтым пигментом *Curcuma longa* (куркумы длинной, или турмерика), на протяжении длительного времени широко используются в лечении растяжений связок и воспалительных процессов. Обладая антиоксидантной активностью, куркуминоиды защищают ДНК от оксидативной атаки, что снижает риск мутаций и других генетических повреждений. Кроме того, они активируют ферменты детоксификации, такие как глутатион- и S-трансфераза. Куркумины способны оказывать понижающую регуляцию на NF-κB – ядерный фактор транскрипции и ключевой регулятор генов, контролирующей каскады острого и хронического воспаления. Куркумин (основной куркуминоид) проявлял благоприятные эффекты в экспериментальных моделях повреждения печени и цирроза у животных. Блокируя активацию NF-κB и индукцию HO-1, куркумин предотвращал алкогольиндуцированное повреждение печени у крыс. На модели стеатогепатита куркумин замедлял прогрессирование фиброза. Кроме того, установлена способность этого соединения ингибировать образование внеклеточного матрикса путем увеличения экспрессии матричных металлопротеиназ звездчатых клеток печени и подавлять экспрессию фактора роста соединительной ткани. Увеличивая уровни белка p53, экстракт куркумы длинной может подавлять репликацию HBV.

Силимарин

Силимарин представляет собой очищенный экстракт расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn), состоящий из смеси четырех изомерических флавоногликанов: силибинина (основной активный компонент), изосилибинина, силидианина и силикристина. Экстракт этого растения используется как лекарственное средство уже более 2 тыс. лет и продолжает применяться в современной медицине для лечения различных острых и хронических заболеваний печени. Силибинин проявляет мощное антиоксидантное действие, сохраняя запасы глутатиона в гепатоцитах и защищая мембраны клеток печени от оксидативных атак.

В клинических исследованиях силимарин ингибировал печеночный фиброгенез и способствовал регенерации печени. У пациентов с заболеваниями печени вирусной, алкогольной и другой этиологии назначение силимарина или силибинина сопровождалось снижением активности печеночных трансаминаз, улучшением антиоксидантного статуса и уменьшением выраженности симптомов. Препараты расторопши пятнистой рутинно используются в клинической практике как гепатопротекторы. Силимарин оказывает благоприятные эффекты на ранних стадиях ХБП, предотвращая HBV-ассоциированный канцерогенез или отдаленно его начало.

Противовоспалительный и противоопухолевый эффекты силибинина и других флавоногликанов связаны с мощным подавлением NF-κB. Силибинин является сильным ингибитором TNFα-индуцированной активации NF-κB.

Зеленый чай

Зеленый чай – продукт растения *Camellia sinensis* (семейство Theaceae); содержит полифенолы, а именно катехины класса флавантриола и их галловые производные, обладающие выраженными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Флавантриоловая структура позволяет катехинам эффективно связывать супероксид, синглетный кислород, оксид азота и пероксинитриты. Катехины оказывают повышающее регулирующее действие на антиоксидантные и другие детоксицирующие ферменты и защищают ДНК от оксидативного повреждения. Как и другие флавоноиды, катехины зеленого чая могут подавлять NF-κB и AP-1 – молекулы, которые в случае избыточной активации способствуют хроническому воспалению и канцерогенезу. Добавление к культуре клеток, осуществляющих репликацию HBV, экстракта натурального зеленого чая приводило к снижению экспрессии вирусных генов и замедлению роста клеток.

Витамины С и Е

Витамин С – неотъемлемый компонент здоровой диеты и высокоэффективный антиоксидант. В организме человека этот витамин является субстратом для аскорбатпероксидазы. Витамин Е относится к жирорастворимым витаминам и является основным антиоксидантом, обнаруживаемым в липидной фазе клеточных мембран. Он блокирует образование АФК из липидов, подвергающихся окислению. В многочисленных исследованиях было показано, что у пациентов с алкогольной болезнью печени сывороточные уровни витамина Е значительно снижены. Кроме того, концентрация этого витамина в сыворотке проявляет обратную корреляцию с образованием продуктов оксидативного стресса и прямую – с выраженностью повреждения печени. Поддержание нормального уровня витамина Е является необходимым условием для предотвращения ПОЛ, вызванного употреблением алкоголя. Витамин Е самостоятельно или в комбинации с витамином С может способствовать связыванию свободных радикалов, образующихся в печеночной ткани. На модели алкогольного гепатита у мышей назначение витамина Е нормализовало окислительно-восстановительный статус, уменьшало апоптоз и предотвращало оксидативный стресс. Витамин Е в дозах 600 мг/сут подавлял репликацию HBV и снижал уровни АЛТ до нормальных у значительной части пациентов с ХБП.

Таким образом, алкоголь- и вирусиндуцированное повреждение печени является многоэтапным процессом, который включает множество механизмов. Способность HBV и алкоголя вызывать оксидативный стресс и роль АФК в HBV- и алкогольиндуцированном повреждении печени являются важной областью для дальнейших исследований, так как полученная информация может иметь большое практическое значение, в частности в отношении оптимизации антиоксидантной терапии.

Статья печатается в сокращении.
Список литературы находится в редакции.

Hye-Lin Ha, Hye-Jun Shin, Mark A. Feitelson, Dae-Yeul Yu. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis.
World Journal of Gastroenterology 2010; 16 (48): 6035-6043

Перевел с англ. Алексей Терещенко



КАРСИЛ®

надасть печінці нових сил!

- ✓ Надійний рослинний захист
- ✓ Ефективне відновлення клітин печінки
- ✓ Комплексне рішення в лікуванні захворювань печінки



**ПАНАЦЕЯ
ПРЕПАРАТ
РОКУ 2010**

Представительство АД "Софарма" в Украине
пр.Московский, д.9, 4 корпус,
2 этаж, офис 4-203
Киев, 04073
тел./ факс: +380 44 351 13 69/70/71

Р.п. №UA 2773/01/01 від 28.03.05., №UA 2773/01/02 від 22.01.09.