

Рис. 3. Разделение стандартного образца силимарина с использованием выбранных методик

При анализе стандартного образца силибина было обнаружено 4 пика веществ со сходными свойствами. Данные других авторов показывают худшее разделение.

Выводы:

1. Выбрана методика пробоподготовки, заключающаяся в предварительном обезжиривании образца гептаном.
2. Выбрана подвижная фаза и режим разделения, позволяющая добиться большей степени разделения стандарта, чем в найденной литературе

Список литературы:

1. Куркин В. А. Расторопша пятнистая—источник лекарственных средств (обзор) //Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37. – №. 4. – С. 27-41.
2. AbouZid S. F., Chen S. N., Pauli G. F. Silymarin content in Silybum marianum populations growing in Egypt //Industrial crops and products. – 2016. – Т. 83. – С. 729-737.

УДК 616-01

**Шмелёва В.П., Коврижных И.В., Устинова Д.В., Абдуллаев А.Н.,
¹Изможерова Н.В., ²Попов А.А.
БИОХИМИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ МЕТОТРЕКСАТА.**

¹Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
²Кафедра госпитальной терапии и скорой медицинской помощи
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Shmeleva V.P., Kovrizhnyh I.V., Ustinova D.V., Abdullaev A.N.,
¹Izmozherova N.V., ²Popov A.A.**

BIOCHEMICAL AND PHARMACOGENETIC ASPECTS OF METHOTREXATE-INDUCED HEPATOTOXICITY. LITERATURE REVIEW.

¹Department of pharmacology and clinical pharmacology

²Department of hospital therapy and emergency medical care

Ural state medical university

Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: alexandrabdul@yandex.ru

Аннотация. Обзор посвящён последним данным о механизмах развития гепатотоксического действия метотрексата. Окончательного понимания механизма этого побочного эффекта в современной науке нет, тем не менее ряд авторов указывает на возможные молекулярные, биохимические аспекты возникновения гепатотоксичности. В последние 5 лет появляется всё больше информации о фармакогенетической природе формирования токсического действия метотрексата на печень. Понимание механизма гепатотоксичности метотрексата позволит разработке адекватных гепатопротективных мер, которые позволят продолжать терапию препаратом с уменьшением вреда пациенту.

Annotation. The review is devoted to the latest data on the mechanisms of development of the hepatotoxic effect of methotrexate. There is no final understanding of the mechanism of this side effect in modern science, however, a number of authors indicate possible molecular, biochemical aspects of the occurrence of hepatotoxicity. In the last 5 years, more and more information has appeared about the pharmacogenetic nature of the formation of the toxic effect of methotrexate on the liver. Understanding the mechanism of hepatotoxicity of methotrexate will allow the development of adequate hepatoprotective measures that will allow continued therapy with the drug while reducing harm to the patient.

Ключевые слова: Метотрексат, побочные эффекты, фармакогенетика, гепатотоксичность.

Key words: Methotrexate, side effects, pharmacogenetics, hepatotoxicity.

Введение

Метотрексат (МТ) является одним из востребованных препаратов в нескольких медицинских отраслях: ревматология, дерматология, гастроэнтерология и онкология. В клинической практике востребованными являются противовоспалительный, цитостатический и иммуносупрессивный эффекты МТ. Препарат относится к группе антиметаболитов – антагонист фолиевой кислоты. Использование МТ ассоциировано с длительным курсом приёма препарата и большими кумулятивными дозами. К сожалению, это приводит к формированию нежелательных лекарственных явлений, в частности гепатотоксичности. Несмотря на то, что данные о токсическом действии МТ

получены ещё в 50-ых годах, единого мнения о механизме этого явления до сих пор нет в научном обществе. Это является проблемой в свете научного поиска эффективных веществ с гепатопротекторными свойствами, которые могли бы использоваться для предупреждения МТ-обусловленным повреждением печени.

Цель исследования – выявление молекулярных, генетических и биохимических механизмов гепатотоксичности метотрексата.

Материалы и методы исследования

Проведён поиск актуальной научной литературы в базах «Киберленинка» (запросы – «метотрексат», «гепатотоксичность», «побочные эффекты метотрексата»), PubMed (MeSH-термины «methotrexate», «Drug toxicity»). Использован фильтр, который ограничил доступ к материалам изданных более 7 лет назад.

Результаты исследования и их обсуждение

Гепатотоксичность МТ является побочным эффектом типом А, то есть данный НЛР истекает из особенностей фармакодинамики препарата, имеется связь с высокими дозами препарата. Стоит отметить, что в фармакологии выделяются несколько точек воздействия МТ, которые могут быть использованы в терапевтических целях: ингибирование дигидрофолатредуктазы и замедление клеточного цикла, подавления деления и дифференцирования клетки; ингибирование фермента 5-аминоимидазол-4-карбоксамидорибонуклеотидтрансамилазу (АИКАР) с увеличением содержания аденозина; ингибирование синтеза полиаминов (спермин и спермидин) с дальнейшим нарушением метилирование ДНК клетки; образование большого количества активных форм кислорода в результате уменьшения образования свободного тетрагидробиоптерина из оксидированного дигидробиоптерина.

Одним из возможных эффектов гепатотоксичности МТ является его «классический» механизм действия, обусловленный ингибированием дигидрофолатредуктазы. В дальнейшем происходит снижение образования тетрагидрофолевой кислоты, необходимого фактора в реакции метилирования при биосинтезе метионина, тимина, серина, образования пуриновых нуклеотидов [1]. Данные биохимические процессы, будут способствовать нарушению синтетических процессов в клетке (в частности биосинтеза белков и нуклеиновых кислот), что в дальнейшем снижает функциональный и регенераторный потенциал гепатоцитов. Косвенно это подтверждает увеличение гепатотоксического действия МТ в группах рисках по данной НЛР – люди, злоупотребляющие алкоголем, имеющие в анамнезе заболевания печени, или принимающие нестероидные противовоспалительные препараты.

Интересная точка зрения о возможном механизме гепатотоксичности МТ обнаружена в исследовании Chan E.S. et al.[2]. Исследователи связали формирование печёночного фиброза с повышенным содержанием аденозина на фоне приёма МТ. Так аденозин ведёт к увеличению синтеза матричных белков клетками Ито. Предполагается, что данный механизм опосредуется воздействием аденозина через рецептор A2A в клетках Ито.

Другой возможный механизм - поддержание хронического воспаления в печени через активацию внутриклеточных сигнальных путей, в дальнейшем приводящей к повышению пула провоспалительных цитокинов. Побочные эффекты воспалительного характера могут быть объяснены селективным активирующим действием метотрексата на провоспалительные цитокины – интерлейкины 1 и 6, TNF α и Т-клетки [3]. Это может обуславливать развитие лекарственных воспалительных поражений внутренних органов, в частности, лекарственного гепатита. Другой вариант воздействия МТ на сигнальные пути - непосредственное ингибирование пути JAK-STAT – функция которого, восприятие внеклеточных полипептидных сигналов посредством трансмембранных рецепторов непосредственно к промоторам генов-мишеней в ядре, с дальнейшим усилением транскрипции внутри клетки, без влияния на другие пути фосфорилирования [4]. Основные мишени МТ в пути JAK-STAT – образование интерлейкин-15 и Интерферон-альфа. Путь JAK-STAT принимает участие в большинстве процессов пролиферации, соответственно, его выключение может тормозить клеточные рост и развитие.

МТ может обуславливать усиление оксидативного стресса [5]. Исследование Neslihan Pınara, Mahir Kaplan и др. [6] постулирует, что длительное применение высоких доз МТ увеличивает количество таких маркёров оксидативного стресса как малоновый диальдегид и миелопероксидаза. Такое действие МТ на гепатоциты объясняется тем, что МТ способен ингибировать НАДФ в цитоплазме клетки и снижать уровни восстановленного глутатиона. Это, в свою очередь, приводит к увеличению уровня активных форм кислорода внутри клетки, что увеличивает интенсивность перекисного окисления липидов и повышает вероятность апоптоза. Также в пользу способности МТ индуцировать окислительный стресс свидетельствуют данные экспериментов об ограничении повреждений печени, вызванных МТ, при использовании антиоксидантов: ацетилцистеина, мелатонина, таурина [7]. Одновременно происходило снижение хромосомных аберраций в половых и соматических клетках. При использовании таурина, L-карнитина, отмечено снижение клеточного опустошения костного мозга, ограничение апоптоза лимфоцитов с одновременным уменьшением малонового диальдегида, являющимся непосредственным продуктом перекисного окисления липидов и поддержанием уровня восстановленного глутатиона [4]. Краткая схема приложения МТ представлена на рисунке 1. Соответственно путем воздействия на те или иные этапы, можно снизить побочный эффект препарата.

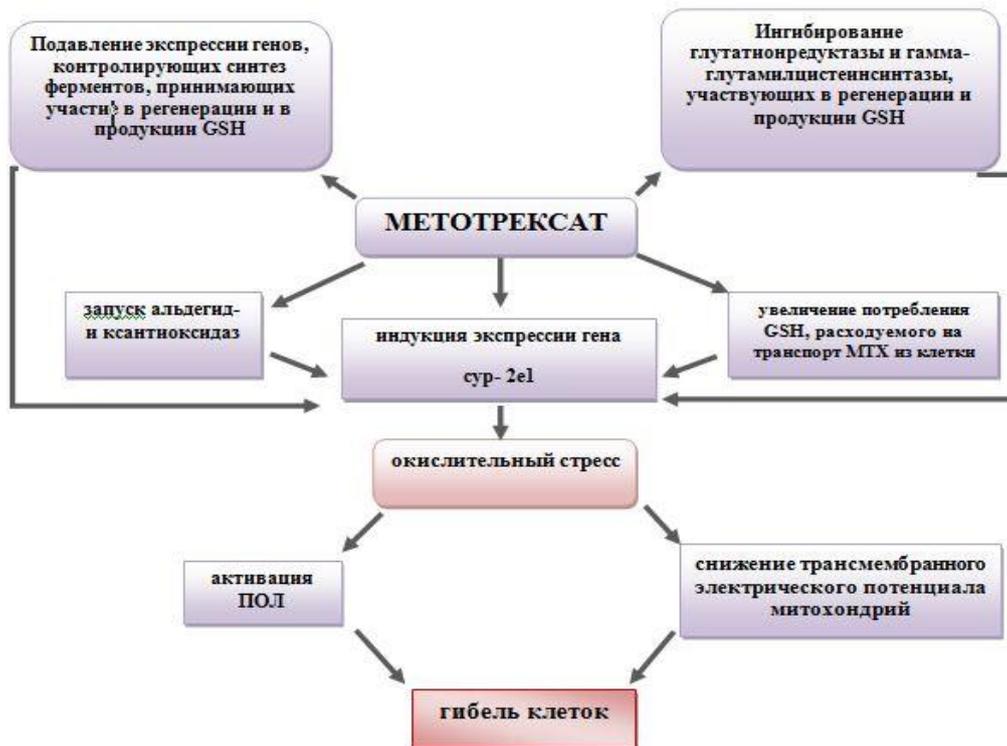


Рис.1. Общая схема мишеней гепатотоксического действия метотрексата

В последние несколько лет отмечается важность фармакогенетических особенностей в появлении токсических эффектов МТ, так и ответа на терапию данным препаратом в целом. Ген, кодирующий синтез метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR) оказывает влияние на точки приложения МТ и, соответственно, на реализацию его токсических эффектов. Две наиболее часто встречающихся мутации, влияющие на обмен МТ – это Ц-Т транзигия в 667 нуклеотиде и А-Ц транзигия в 1298 нуклеотиде гена МТНFR. Так по данным российских исследователей МТ-индуцированная гепатотоксичность отмечалась чаще у людей с гомозиготным генотипом МТНFR TS 6bp ins/ins. При экспрессии фермента, связанного с подобными полиморфизмом, повышается риск возникновения МТ-обусловленной гепатотоксичности. Однако обзор Jared M. Campbell и др [7], приводит противоречивые данные – по результатам исследования Hagleitner и др. полиморфизм МТНFR играет незначительную роль в увеличении частоты развития МТ-обусловленного поражения печени. Подобный эффект был статистически значимым лишь в выборке женщин, страдающих онкологическими заболеваниями и получающих МТ в качестве лечения, в то же время группы пациентов-мужчин, детей и азиатов не показали сколько-нибудь значимых различий. В том же исследовании отмечено статистически значимое отличие метаболизма МТ у людей с гомозиготным вариантом полиморфизма гена МТНFR – риск развития гепатотоксичности, обусловленной МТ повышался. Аллель (по крайней мере одна) MDR1 3435T была ассоциирована с высокой токсичностью МТ, особенно гепатотоксичностью. Японские исследователи

выявляли особенности генотипа у пациентов с ревматоидным артритом, которые имели проявления гепатотоксического действия МТ. Было выявлено в качестве генетических факторов риска генетический полиморфизм ABCB1 3435C>T и AT1C 347C>G.[8]

Выводы:

1. Механизм гепатотоксичности МТ может быть связан с нарушением синтеза пуринов, повышение содержания аденозина, дисбалансом содержания цитокинов. В целом проявляется нарушением окислительного баланса в печени.

2. Аллели MTHFR TS 6bp ins/ins, MDR1 3435T и генетический полиморфизм ABCB1 3435C>T и AT1C 347C>G связаны с проявлениями гепатотоксичности при приёме МТ

Список литературы:

1. Bath R. K. A review of methotrexate-associated hepatotoxicity/ Bath R. K., Brar N. K., Forouhar F. A., & Wu, G. Y. A review of methotrexate-associated hepatotoxicity // Journal of Digestive Diseases. – 2014. – Vol.15(10). – P. 517–524.

2. Sramek M. Much more than you expected: The non-DHFR-mediated effects of methotrexate/ Sramek M., Neradil, J., & Veselska, R. Much more than you expected: The non-DHFR-mediated effects of methotrexate. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects.– 2017. – Vol.1861 (3). – P.499–503.

3. Gremese E. JAK inhibition by methotrexate (and csDMARDs) may explain clinical efficacy as monotherapy and combination therapy/ Gremese E., Alivernini S., Tolusso B., Zeidler M. P., Ferraccioli, G. JAK inhibition by methotrexate (and csDMARDs) may explain clinical efficacy as monotherapy and combination therapy. // Journal of Leukocyte Biology. – 2019. – Vol. 106(5) – P. 1063–1068.

4. Преодоление гепатотоксичности метотрексата: роль тритерпеноидов / Б.А. Фролов [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2013. – Т.6. – №1. - С. 1-10

5. Колесниченко Л.С. Влияние противоопухолевых антиметаболитов на систему глутатиона/ Колесниченко Л.С., Лалетин В.С. Влияние противоопухолевых антиметаболитов на систему глутатиона// Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2006.– №7. – С.50-51

6. Pinar N. O. Ameliorating effects of tempol on methotrexate-induced liver injury in rats / Pinar N. O., Kaplan, M., Özgür, T., & Özcan, O Ameliorating effects of tempol on methotrexate-induced liver injury in rats // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2018. – Vol. 102. – P.758–764.

7. Campbell, J. M., Bateman, E., Stephenson, M. D., Bowen, J. M., Keefe, D. M., & Peters, M. D. J. Methotrexate-induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. // Cancer Chemotherapy and Pharmacology. – 2016. – Vol. 78(1). – P.27–39.

8. Девальд И.В., Ходус Е.А., Хромова Е.Б., Несмеянова О.Б., Бурмистрова А.Л. Аллельные полиморфизмы гена тимидилатсинтазы и их гаплотипы как предикторы ответа на метотрексат у больных ревматоидным артритом. Научно-практическая ревматология. – 2019. – 57(2). – С.149-153.