

# Роль запалення у холестазі: фундаментальні та клінічні аспекти

С.М. ГОЙДА, к. мед. н.

/Олександрівська міська  
клінічна лікарня, Київ/

## Резюме

### Роль воспаления в холестазе: фундаментальные и клинические аспекты

С.М. Гойда

Гепатобилиарная транспортная система выполняет важные функции по всасыванию и экскреции различных веществ, включая желчные кислоты. Нарушения деятельности этих экскреторных путей приводит к развитию холестаза, что обуславливает накопление в ткани печени желчных кислот и токсичных веществ, что способствует прогрессированию патологии печени. Холестаз, индуцированный воспалением, является частым осложнением у пациентов с внепеченочной инфекцией или воспалительным процессом и в основном называется сепсис-ассоциированным холестазом. Продукты жизнедеятельности бактерий, включая эндотоксины, индуцирует сигнальные механизмы гепатоцитов либо непосредственно, либо через активацию провоспалительных цитокинов, приводя к выраженному и быстрого снижения оттоку желчи. Экспрессия и функционирования основных гепатобилиарных транспортных механизмов подавляется в ответ на воспалительный процесс. Этот провоспалительный сигнальный каскад способствует снижению в ядрах клеток экспрессии и активности существенного количества регуляторов транскрипции, многие из которых важны для поддержания экспрессии гепатобилиарного гена-транспортера. Интересный факт: недавно обнаружена перекрестная реакция между рецепторами клеточного ядра, активируемыми желчными кислотами и провоспалительными медиаторами, может способствовать новому пониманию адаптивных процессов в ткани печени. Холестаз, индуцированный воспалением, и влияние веществ, которые задерживаются в печени, на провоспалительные сигнальные пути – взаимосвязаны, что представляет собой потенциально важную проблему как для исследователей, так и для практикующих врачей.

**Ключевые слова:** гепатобилиарная транспортная система, желчные кислоты, холестаз, провоспалительные цитокины

## Summary

### The Role of Inflammation in Cholestasis: Fundamental and Clinical Aspects

S.M. Hojda

Hepatobiliary transport system plays important role in absorption and excretion of substances of various kind, including biliary acids. The disorders in activity of these paths of excretion lead to development of cholestasis and cause accumulation of biliary acids and toxins in liver tissue, thus stimulating further development of hepatopathy. Inflammation-induced cholestasis is frequent complication in patients with non-hepatic inflammation or inflammatory process and, in most cases, is diagnosed as sepsis associated cholestasis. Products of bacteria activity, including endotoxins, induce signal mechanisms of hepatocytes directly, or through pro-inflammatory cytokines, thus promoting apparent and rapid decrease in bile outflow. Expression and proper functioning of main hepatobiliary transport system mechanisms is being suppressed in response to inflammatory process. Such pro-inflammatory signal cascade promotes decline of expression and activity of substantial amount of transcription regulators, many of which are important for proper expression of hepatobiliary transporter gene, in cell nuclei. The interesting fact is that recently revealed cross-reaction between nucleus receptors, activated by biliary acids, and pro-inflammatory receptors could help to develop new perception of adaptive processes in liver tissue. Inflammation-induced cholestasis and the impact of substances, held in the liver, on pro-inflammatory signal paths, are correlated in patients with cholestasis, and such a correlation presents potentially important challenge for medical researchers and practitioners.

**Key words:** Hepatobiliary transport system, biliary acids, cholestasis, pro-inflammatory cytokines

Утворення жовчі в нормі опосередковане і підтримується координуючою функцією цілого ряду транспортних систем, розташованих на оболонці гепатоцитів, холангіоцитів і ентероцитів. Ці транспортні системи злагоджено працюють, захоплюючи й екскретуючи безліч різних речовин, що формують жовч, і сприяючи переробці деяких із цих речовин внутрішньоклітинними ферментами й сигнальними молекулами [1–7]. Стан відтоку жовчних кислот – основного компонента жовчі – визначає формування більшості жовчних утворень, а порушення відтоку залежних і незалежних від жовчних кислот компонентів жовчі лежить в основі холестаза [8–16]. Зокрема, від нормальної функції цих транспортних систем безпосередньо залежить склад жовчі. Функція цих систем регулюється на різних рівнях: від ініціації в ядрах клітин транскрипції РНК, до мікродоменої структури клітинних мембран. У клітинному ядрі процеси транскрипції регулюються цілою низ-

кою факторів, що включають як компоненти надсімейства ядерних рецепторів, так і інші компоненти комплексу транскрипції [17, 18]. Крім синтезу й трансляції РНК, функціонування й локалізація гепатобіліарних транспортних протеїнів залежить від нормальної роботи внутрішньоклітинних транспортних шляхів й цитоскелету, так само як і від сигнальних регуляторів, котрі після транскрипції модифікують активність, локалізацію й стабільність протеїнів. Враховуючи всі етапи підтримки експресії білків, котрі керують цим важливим процесом, і їх роль у підтримці показників гомеостазу всього організму й функцій печінки шляхом елімінації великих концентрацій токсичних речовин і біоактивних малих молекул, не дивно, що клітини, залучені в підтримку відтоку жовчі, регулюють експресію й функцію основних молекулярних компонентів у відповідь на ушкодження й дію стресорів. Така скоординована відповідь чітко проявляється, наприклад, у швидкому зниженні продукції

жовчі печінкою як адаптація при розвитку інфекції або запалення. Таким чином, індукований запаленням холестаза є центральним компонентом комплексної відповіді печінки на прозапальні сигнали, як частини негативної гострофазної відповіді [19–21].

Індукований запаленням холестаза найчастіше розвивається при впливі ліпополісахаридів (ЛПС) або ендотоксинів, що виділяють грамнегативні бактерії, хоча грампозитивні збудники та інші інфекційні агенти теж можуть призводити до холестазу. Циркуючі у крові ЛПС нейтралізуються в основному печінкою, чий мононуклеар (у першу чергу, купферівські клітини) реагують секрецією великої кількості прозапальних речовин (цитокінів). Ці локально синтезовані цитокіни, у свою чергу, активують мембранні рецептори гепатоцитів і холангіоцитів, котрі передають внутрішньоклітинні сигнали, що призводить до порушення експресії й функціонування транспортних систем [12, 15, 22]. Ушкодження роботи транспортних систем, що беруть участь в обмінних процесах жовчних кислот, I та II фаз системи детоксикації у гепатоцитах призводить до порушення утворення жовчі й накопичення жовчних кислот і токсинів у тканині печінки й сироватці крові [8, 23].

Найцікавішими ЛПС-індукованими протизапальними цитокінами в цих сигнальних каскадах є ті, що беруть участь у гострофазній відповіді печінки – фактор некрозу пухлин  $\alpha$  (ФНП $\alpha$ ), інтерлейкін-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ) і інтерлейкін-6 (ІЛ-6) [20, 21]. Ці та інші сполуки секретуються ЛПС-активованими купферівськими клітинами та ендотеліальними клітинами синусів, гепатоцитами й холангіоцитами. Сепсис може стимулювати виділення інших біоактивних малих молекул, таких як оксид азоту (NO), продукція котрого підвищується в результаті збільшення активності синтаз оксиду азоту eNOS і iNOS у купферівських та ендотеліальних клітинах. NO має подвійний вплив на печінку: низькі концентрації мають гепатопротективну дію (розширення судин, підтримка серцевого викиду, запобігання апоптозу й стимулювання відтоку жовчі), тоді як високі концентрації шкідливі (реакція з перекисом з утворенням радикалів, що сприяє ушкодженню, розвитку важкої гіпотензії, судинного колапсу та холестазу). ЛПС також індукує продукцію простагландинів купферівськими клітинами, але конкретно простагландин E має захисні властивості, знижуючи синтез прозапальних цитокінів.

Хоча основну роль у запальній реакції печінки на вплив ЛПС відіграють купферівські клітини [24–26], інші типи клітин також мають свій внесок. Гепатоцити можуть продукувати цитокіни [27, 28] і забезпечують клітинну відповідь секрецією гострофазних протеїнів. Холангіоцити продукують цитокін ІЛ-8, хемокін МХБ-1 (моноцитарний хемотактичний білок-1) [29, 30], ЛПС-індукований ІЛ-12 і ФНП $\alpha$  [30–32]. Таким чином, відповідь мононуклеарів печінки на ЛПС та інші продукти життєдіяльності бактерій, як і здатність клітин мішеней розпізнавати ці речовини й секретовані протеїни, визначає ступінь змін функціонування транспортних систем і в ще більшому ступені – виразність і тривалість холестазу.

Останні дані про те, що NF- $\kappa$ B (ядерний фактор «каппа-бі») взаємодіє з ядерними рецепторами, зокрема FXR і PXR, розширили наші знання, але також і ускладнили уявлення про регулювання функції транспортних систем в умовах запалення [34, 35]. Результати цих досліджень припускають взаємодію між NF- $\kappa$ B і FXR при активації запальним процесом або лігандом, відповідно: ЛПС активує NF- $\kappa$ B і припускає протизапальну роль FXR, тому що активація FXR інгібує NF- $\kappa$ B. Дійсно, експресія ЛПС-індукованих цитокінів була значно підвищена у мишей, позбавлених FXR.

Холестатична запальна відповідь печінки не обмежується тільки гепатоцитами, також розвивається запальна відповідь жовчних

протоків. Немає даних ні про регуляторні механізми, ні про подальшу долю аніонного обмінника 2 (Ae2 – anion exchanger 2), транспортера й регулятора трансмембранної провідності муковіцидозу (Cftr – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator).

Існує безліч клінічних ситуацій, де запалення або стає причиною, або сприяє розвитку холестатичних захворювань печінки. Деякі з них мають чіткий зв'язок (наприклад, первинний склерозуючий холангіт (ПСХ), аутоімунний гепатит або сепсис), хоча в інших випадках імовірніший непрямий вплив (наприклад, лікарські реакції, посттрансплантаційне відторгнення, повне парентеральне харчування (ППХ) або системні стани, такі як ревматоїдний артрит). Крім того, за даними останніх досліджень передбачається, що самі жовчні кислоти можуть діяти як протизапальний засіб через рецептори ядра, залежні від жовчних кислот, подібно до рецепторів глюкокортикоїдів [34]. Загалом, враховуючи центральну роль печінки в уродженому імунітеті – основній лінії захисту організму від вторгнення й різних ксенобіотиків – не дивно, що печінка може організувати комплексну, скоординовану відповідь на запалення. Частиною цієї реактивності і є функція печінки в розвитку гострофазної відповіді, котра є проявом «системи раннього оповіщення» і «швидкого реагування» на різні ушкодження й інфекції, при цьому в системний кровотік виділяється безліч різних протимікробних, антиоксидантних і репаративних речовин і протеїнів. Таким чином, розвиток процесу й результат його у пацієнта з патологією печінки може залежати від балансу печінкової, локальної та міжклітинної відповідей на запалення й холестаза.

У декількох дослідженнях вивчалася регуляція генів-транспортерів при холестазі в результаті запального процесу, а конкретно при первинному біліарному цирозі (ПБЦ) і первинному склерозуючому холангіті (ПСХ) [23]. При холестазі, що індукований запальним процесом (в основному через вплив алкоголю), експресія генів BSEP, NTCP і OATP2 пригнічувалася, тоді як вміст протеїну MRP2 (але не рівень РНК MRP2) знижувався [33]. Цікаво, що при прогресуванні ПБЦ відбуваються деякі зміни з метою розвантажити печінку від надлишку жовчних кислот [37]. Рівні РНК NTCP і OATP2 знижуються, тоді як експортера – MRP3 – підвищується, що, можливо, відбулося в цих зразках під впливом терапії урсодезоксихоловою кислотою (цей ефект не може бути визначений). Рівні РНК OST $\alpha$  і OST $\beta$  зростають на пізніх стадіях ПБЦ, імовірно, у результаті ретенції жовчних кислот і індукції транскрипції, опосередкованої FXR [38]. Таким чином, здатність надлишку жовчних кислот впливати на експресію BSEP, вочевидь, проявляється в пізніх стадіях ПБЦ. В одному з опублікованих досліджень наводяться рівні РНК транспортера при ПБЦ на тлі зниженого змісту OATP2 і MRP2 у зразках печінки [39]. У майбутньому необхідно продовжувати подібні дослідження для виявлення характеру реакції транспортера на холестаза при запальних холангіопатіях.

На додаток до відомої ролі сепсису в патогенезі холестазу нещодавно висунута цікава гіпотеза, що припускає механічні причини зниження запального процесу при холестазі [34, 40]. Практикуючі лікарі протягом більш ніж 100 років відзначають, що деякі системні запальні процеси на якийсь час вгасають на тлі епізодів гепатиту [41]. Ще в 1897 г. Still відзначив послаблення суглобової симптоматики ревматоїдного артриту на тлі загострень гепатиту, тоді як Hench у клініці Mayo видавив серію з 19 випадків вгасання суглобової симптоматики, найчастіше пов'язаного з розвитком інфекції, що супроводжується жовтяницею [42, 43]. Таким чином, був зроблений висновок щодо протизапальних властивостей жовчі або, можливо, жовчних кислот і вживали спроби повторити феномен шляхом інфузій жовчних кислот або інфікованої

сироватки. Результати подібних досліджень були непереконливі, хоча спостерігались випадки минушого поліпшення відносно суглобової симптоматики. У сучасних лабораторних дослідженнях на культурах людських моноцитів було показано, що інкубація з жовчними кислотами призводила до зниження експресії цитокінів [44]. Дотепер невідомо, до якого ступеня жовчні кислоти можуть пригнічувати запалення при захворюваннях печінки в людини, але відкриття цих шляхів на тваринних моделях й культурах людських клітин надає можливість у майбутньому модифікувати вплив запального процесу на печінку.

Успішне застосування відповідних антибактеріальних засобів, що впливають на причину поразки печінки при сепсисі, звичайно призводить до розв'язання гепатобілярних розладів, включаючи холестаза. Поновлення повного ентерального харчування в дітей із холестазом, що з'явився у результаті повного парентерального харчування, звичайно призводить до нормалізації показників зв'язаного білірубіну крові й жовчних кислот протягом тижнів. У пацієнтів із холестазом у результаті впливу інфузій прозапальних цитокінів холестаза зникав незабаром після припинення інфузій. Однак проблеми, пов'язані з хронічними запальними процесами (наприклад, ПБЦ і ПСХ) дотепер актуальні через відсутність ефективного лікування. Нові варіанти лікування, що, можливо, впливають на ядерні рецептори [17], можуть виправдати надії лікарів. При цих двох захворюваннях так само, як і при біліарній атрезії, проти-запальні засоби (глюкокортикоїди) неефективні. Таким чином, необхідно розробляти інші напрямки впливу й, відповідно, нові ефективні лікарські засоби.

## Література

- Copple B.L., Jaeschke H., Klaassen C.D. Oxidative stress and the pathogenesis of cholestasis // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 193–202.
- Davit-Spraul A., Gonzales E., Baussan C., Jacquemin E. The spectrum of liver diseases related to ABCB4 gene mutations: Pathophysiology and clinical aspects // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 132–144.
- Pauli-Magnus C., Meier P.J., Stieger B. Genetic determinants of drug induced cholestasis and Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 145–157.
- Paulusma C.C., Oude Elferink R.P.J., Jansen P.L.M. Progressive familial intrahepatic cholestasis type 1 // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 115–122.
- Lam P., Soroka C.J., Boyer J.L. The bile salt export pump: Clinical and experimental aspects of genetic and acquired cholestatic liver disease // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 123–131.
- Soroka C.J., Ballatori N., Boyer J.L. Organic solute transporter, OSTalpha-OSTbeta: Its role in bile acid transport and cholestasis // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 176–183.
- Wagner M., Zollner G., Trauner M. Nuclear receptor regulation of the adaptive response of bile acid transporters in cholestasis // *Semin. Liver. Dis.* – 2010; 30 (2): 158–175.
- Wagner M., Zollner G., Trauner M. New molecular insights into the mechanisms of cholestasis // *J. Hepatol.* – 2009; 51 (3): 565–580.
- Zollner G., Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases // *Br. J. Pharmacol.* – 2009; 156 (1): 7–27.
- Stahl S., Davies M.R., Cook D.I., Graham M.J. Nuclear hormone receptor-dependent regulation of hepatic transporters and their role in the adaptive response in cholestasis // *Xenobiotica.* – 2008; 38 (7–8): 725–777.
- Kosters A., Karpen S.J. Bile acid transporters in health and disease // *Xenobiotica.* – 2008; 38 (7–8): 1043–1071.
- Mulder J., Karpen S.J., Tietge U.J., Kuipers F. Nuclear receptors: mediators and modifiers of inflammation-induced cholestasis // *Front. Biosci.* – 2009; 14: 2599–2630.
- Dawson P.A., Lan T., Rao A. Bile acid transporters // *J. Lipid. Res.* – 2009; 50 (12): 2340–2357.
- Teng S., Piquette-Miller M. Regulation of transporters by nuclear hormone receptors: implications during inflammation // *Mol. Pharm.* – 2008; 5(1): 67–76.
- Geier A., Fickert P., Trauner M. Mechanisms of disease: mechanisms and clinical implications of cholestasis in sepsis // *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006; 3 (10): 574–585.
- Geier A., Wagner M., Dietrich C.G., Trauner M. Principles of hepatic organic anion transporter regulation during cholestasis, inflammation and liver regeneration // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007; 1773 (3): 283–308.
- Karpen S.J., Trauner M. The new therapeutic frontier – Nuclear receptors and the liver // *J. Hepatol.* – 2009; December 24 (Epub ahead of print).
- Zollner G., Marschall H.U., Wagner M., Trauner M. Role of nuclear receptors in the adaptive response to bile acids and cholestasis: pathogenetic and therapeutic considerations // *Mol. Pharm.* – 2006; 3(3): 231–251.
- Moshage H. Cytokines and the hepatic acute phase response // *J. Pathol.* – 1997; 181 (3): 257–266.
- Gabay C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation // *N. Engl. J. Med.* – 1999; 340 (6): 448–454.
- Baumann H., Gauldie J. The acute phase response // *Immunol. Today* 1994; 15 (2): 74–80.
- Trauner M., Fickert P., Stauber R.E. Inflammation-induced cholestasis // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1999; 14 (10): 946–959.
- Trauner M., Wagner M., Fickert P., Zollner G. Molecular regulation of hepatobiliary transport systems: clinical implications for understanding and treating cholestasis // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2005; 39 (4, Suppl 2): S111–S124.
- Nakamura J., Nishida T., Hayashi K. et al. Kupffer cell-mediated down regulation of rat hepatic CMOAT/MRP2 gene expression // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999; 255 (1): 143–149.
- Xu D.X., Wei W., Sun M.F. et al. Kupffer cells and reactive oxygen species partially mediate lipopolysaccharide-induced downregulation of nuclear receptor pregnane x receptor and its target gene CYP3a in mouse liver // *Free Radic. Biol. Med.* – 2004; 37 (1): 10–22.
- Sturm E., Havinga R., Baller J.F. et al. Kupffer cell depletion with liposomal clodronate prevents suppression of Ntcp expression in endotoxin-treated rats // *J. Hepatol.* – 2005; 42 (1): 102–109.
- Ohlinger W., Dinges H.P., Zatlouk K., Mair S., Gallowitsch F., Denk H. Immunohistochemical detection of tumor necrosis factor-alpha, other cytokines and adhesion molecules in human livers with alcoholic hepatitis // *Virchows. Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.* – 1993; 423 (3): 169–176.
- Luster M.I., Germolec D.R., Yoshida T., Kayama F., Thompson M. Endotoxin-induced cytokine gene expression and excretion in the liver // *Hepatology.* – 1994; 19 (2): 480–488.
- Morland C.M., Fear J., McNab G., Joplin R., Adams D.H. Promotion of leukocyte transendothelial cell migration by chemokines derived from human biliary epithelial cells in vitro. *Proc. Assoc. Am. Physicians.* – 1997; 109 (4): 372–382.
- Fava G., Glaser S., Francis H., Alpini G. The immunophysiology of biliary epithelium // *Semin. Liver. Dis.* – 2005; 25 (3): 251–264.
- Harada K., Ohira S., Isse K. et al. Lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through toll-like receptors and related molecules in cultured biliary epithelial cells // *Lab. Invest.* – 2003; 83 (11): 1657–1667.
- Chen X.M., O'Hara S.P., LaRusso N.F. The immunobiology of cholangiocytes // *Immunol. Cell. Biol.* – 2008; 86 (6): 497–505.
- Zollner G., Fickert P., Zenz R. et al. Hepatobiliary transporter expression in percutaneous liver biopsies of patients with cholestatic liver diseases // *Hepatology.* – 2001; 33 (3): 633–646.
- Wang Y.D., Chen W.D., Wang M., Yu D., Forman B.M., Huang W. Farnesoid X receptor antagonizes nuclear factor kappaB in hepatic inflammatory response // *Hepatology.* – 2008; 48 (5): 1632–1643.
- Zhou C., Tabb M.M., Nelson E.L. et al. Mutual repression between steroid and xenobiotic receptor and NF-kappaB signaling pathways links xenobiotic metabolism and inflammation // *J. Clin. Invest.* – 2006; 116 (8): 2280–2289.
- Xia X., Roundtree M., Merikhi A., Lu X., Shentu S., Lesage G. Degradation of the apical sodium-dependent bile acid transporter by the ubiquitin-proteasome pathway in cholangiocytes // *J. Biol. Chem.* – 2004; 279 (43): 44931–44937.
- Zollner G., Fickert P., Silbert D. et al. Adaptive changes in hepatobiliary transporter expression in primary biliary cirrhosis // *J. Hepatol.* 2003; 38 (6): 717–727.
- Boyer J.L., Trauner M., Mennone A. et al. Upregulation of a basolateral FXR-dependent bile acid efflux transporter OSTalpha-OSTbeta in cholestasis in humans and rodents // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* – 2006; 290 (6): G1124–G1130.
- Oswald M., Kullak-Ublick G.A., Paumgartner G., Beuers U. Expression of hepatic transporters OATP-C and MRP2 in primary sclerosing cholangitis // *Liver.* 2001; 21 (4): 247–253.
- Wagner M., Zollner G., Trauner M. Nuclear bile acid receptor farnesoid X receptor meets nuclear factor-kappaB: new insights into hepatic inflammation // *Hepatology.* – 2008; 48 (5): 1383–1386.
- Wishart J. A link between rheumatoid arthritis and jaundice // *BMJ* 1903; 1: 252
- Hench P. Effect Of Jaundice On Chronic Infectious (Atrophic) Arthritis And On Primary Fibrositis: Further observations, attempts to reproduce the phenomenon // *Arch. Intern. Med.* – 1938; 61 (3): 451–480.
- Hench P.S. Recent Investigations on Rheumatism and Arthritis in the United States. – *Ann. Rheum. Dis.* – 1940; 2 (1): 19–40.
- Calmus Y., Guehot J., Podevin P., Bonnef M.T., Giboudeau J., Poupon R. Differential effects of chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids on interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor-alpha production by monocytes // *Hepatology.* – 1992; 16 (3): 719–723.