

ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА АНТИОКСИДАНТОВ НА АМИОДАРОН-ИНДУЦИРОВАННУЮ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ В КЛЕТКАХ ГЕПАТОМЫ ЧЕЛОВЕКА ЛИНИИ *HEPARG*

К. С. Филимонова, Н. Ю. Роговская, П. П. Бельтюков, В. Н. Бабаков ✉

Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, Ленинградская область, Россия

Для эффективной терапии амиодарон-индуцированной гепатотоксичности необходимы изучение механизмов токсического действия амиодарона на гепатоциты и оценка возможного влияния гепатопротекторов. Целью работы было исследовать гепатопротекторный эффект антиоксидантов на амиодарон-индуцированную цитотоксичность с использованием immortalized гепатомы человека линии *HepaRG*. Жизнеспособность клеток оценивали при действии амиодарона и в смеси с витамином E, N-ацетилцистеином и S-аденозилметионином методом импедансометрии, а также определяли содержание некоторых биомаркеров гепатотоксичности с использованием технологии Luminex xMAP. В результате исследования установлен дозозависимый эффект токсического действия амиодарона, IC_{50} амиодарона для линии *HepaRG* составил 3,5 мкМ. Показано, что в присутствии витамина E, N-ацетилцистеина и S-аденозилметионина снижается цитотоксический эффект и увеличивается значение IC_{50} . Амиодарон снижает активность регуляторов клеточного цикла: киназ AKT, JNK и белка p53. В результате действия амиодарона уменьшается содержание АТФ в клетках и наблюдается выход внутриклеточных ферментов (малатдегидрогеназы 1, глутатион-S-трансферазы, сорбитолдегидрогеназы, 5'-нуклеотидазы) в кондиционную среду, что свидетельствует о клеточной гибели по типу некроза. Таким образом, витамин E, S-аденозилметионин и N-ацетилцистеин снижают цитотоксичность амиодарона в модели амиодарон-индуцированного повреждения гепатоцитов и могут быть рассмотрены в качестве гепатопротекторов при необходимости защиты тканей печени от гепатотоксических эффектов амиодарона.

Ключевые слова: *HepaRG*, амиодарон, лекарственная гепатотоксичность, витамин E, N-ацетилцистеин, S-аденозилметионин

✉ **Для корреспонденции:** Владимир Николаевич Бабаков
ст. Капитолово, к. 93, п. Кузьмоловский, Ленинградская область, 188663; babakov@gpech.ru

Статья получена: 20.07.2021 **Статья принята к печати:** 11.08.2021 **Опубликована онлайн:** 23.09.2021

DOI: 10.47183/mes.2021.030

ASSESSING HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF ANTIOXIDANTS ON AMIODARONE-INDUCED CYTOTOXICITY IN HUMAN HEPATOMA *HEPARG* CELL LINE

Filimonova KS, Rogovskaya NYu, Beltyukov PP, Babakov VN ✉

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency, Leningrad Region, Russia

Effective therapy of amiodarone-induced hepatotoxicity requires studying the mechanisms of the toxic effects of amiodarone on hepatocytes and assessing the potential impact of hepatoprotective agents. The study was aimed to assess hepatoprotective effects of antioxidants on the amiodarone-induced hepatotoxicity with the use of immortalized human hepatoma cells of the *HepaRG* cell line. Cell viability was evaluated upon exposure to amiodarone and in the mixture with vitamin E, N-acetylcysteine and S-adenosylmethionine by impedance measurement; the levels of some hepatotoxicity biomarkers were defined using the Luminex xMAP technology. As a result of the research, the dose-dependent toxic effects of amiodarone were established. The IC_{50} value of amiodarone in the *HepaRG* cell line was 3.5 μ M. It is shown that cytotoxic effects decrease and the IC_{50} value increases in the presence of vitamin E, N-acetylcysteine and S-adenosylmethionine. Amiodarone reduces the activity of cell cycle regulators: AKT, JNK kinases, and p53 protein. Exposure to amiodarone results in reduced intracellular ATP levels and the release of intracellular enzymes (malate dehydrogenase 1, glutathione S-transferase, sorbitol dehydrogenase, 5'-nucleotidase) into conditioned medium, indicating the necrotic cell death. Thus, vitamin E, S-adenosylmethionine and N-acetylcysteine reduce amiodarone cytotoxicity in the model of amiodarone-induced damage to hepatocytes and can be considered as hepatoprotective agents in case of the need to protect liver against the hepatotoxic effects of amiodarone.

Keywords: *HepaRG*, amiodarone, drug hepatotoxicity, vitamin E, N-acetylcysteine, S-adenosylmethionine

✉ **Correspondence should be addressed:** Vladimir N. Babakov
Kapitolovo, 93, p/o Kuzmolovsky, Leningradskaja oblast, 188663; babakov@gpech.ru

Received: 20.07.2021 **Accepted:** 11.08.2021 **Published online:** 23.09.2021

DOI: 10.47183/mes.2021.030

Симптомы лекарственно-индуцированного повреждения печени (*drug-induced liver injury*) составляют около 10% побочных реакций, вызываемых лекарственными средствами, и являются основной причиной прекращения клинических испытаний или изъятия уже используемых в терапии лекарственных препаратов. Гепатотоксическими эффектами обладают препараты различных фармакологических групп: антибиотики (амоксциллин-клавуланат), анальгетики (ацетаминофен), противоэпилептические средства (вальпроат) и др. [1].

Снижение дозировки лекарственного препарата или его полная отмена позволяют предотвратить необратимые поражения печени. Однако в ряде случаев необходимо продолжить применение лекарства, обладающего гепатотоксическим действием на фоне применения

гепатопротекторов. Эффективность применяемых в клинической практике гепатопротекторов обусловлена наличием в их составе компонентов с различными механизмами действия. Потребность в разработке новых фармацевтических препаратов для защиты печени от возможных токсических эффектов сохраняется, поскольку далеко не всегда гепатопротекторы могут минимизировать вредные эффекты ксенобиотика, а применение специфических антидотов ограничено использованием N-ацетилцистеина при передозировке парацетамола [2]. Разработка эффективных методов терапии лекарственных поражений печени требует исследования механизмов развития токсических поражений клеток печени и выбора потенциальных гепатопротекторов и специфичных антидотов.

Для антиаритмического средства амиодарона характерны частые побочные эффекты, проявляющиеся симптомами лекарственного поражения печени. Благодаря высокой эффективности и широкому спектру действия амиодарон является одним из наиболее часто назначаемых антиаритмических средств [3].

В 10–15% случаев прием амиодарона сопровождается появлением побочных эффектов в виде повышения уровня сывороточных трансаминаз, фосфолипидоза и стеатогепатита. Длительное применение амиодарона может приводить к развитию острой печеночной недостаточности, иногда приводящей к летальным исходам [4].

Развитие поражения печени в результате приема амиодарона обусловлено его цитотоксическими эффектами. Известно, что амиодарон и его метаболиты (в основном моно- и ди-N-деэтиламиодарон) подавляют работу электронтранспортной цепи и разобщают окислительное фосфорилирование, что должно сопровождаться накоплением активных форм кислорода и развитием окислительного стресса [5, 6]. Об окислительном стрессе свидетельствует увеличение количества маркеров пероксидного окисления липидов после воздействия амиодарона [7]. Кроме того, амиодарон обладает способностью ингибировать фосфолипазу А и β -окисление длинноцепочечных жирных кислот, что способствует накоплению липидов в клетках печени [8, 9]. Одновременно снижаются уровни АТФ внутри клетки и ионов кальция, развиваются повреждения эндоплазматического ретикулума [10].

Ранее на клеточной линии фибробластов мыши L929 было показано, что применение антиоксидантов аскорбиновой

кислоты и N-ацетилцистеина, способствует снижению цитотоксичности амиодарона [11]. Нами исследована способность неспецифических гепатопротекторных соединений с антиоксидантными свойствами (витамина Е и серосодержащих N-ацетилцистеина и S-аденозилметионина) оказывать влияние на цитотоксические свойства амиодарона.

Витамин Е давно известен как цитопротекторный агент и рекомендован к применению в терапии воспалительных и дегенеративных заболеваний печени, в частности при неалкогольной жировой болезни печени и стеатогепатите [12]. N-ацетил-L-цистеин (NAC) является эффективным антидотом при передозировке парацетамола. Также его предлагают использовать в терапии поражения печени другими лекарствами [13]. S-аденозил-L-метионин (SAM) — главный донор метильных групп в организме, а также играет важную роль в метаболизме ксенобиотиков в печени. В связи с этим его тоже рассматривают в качестве гепатопротектора при различных заболеваниях печени. Однако в клинической практике гепатопротекторное действие SAM не подтверждено рандомизированными плацебо-контролируемыми исследованиями [14].

Для исследований цитотоксических эффектов в отношении гепатоцитов *in vitro* применяют клеточные тест-системы на основе первичных культур гепатоцитов человека или immortalized клеточных линий. В своем исследовании мы использовали клеточную линию гепатомы человека *HepaRG*. Клетки этой линии обеспечивают экспрессию ферментов биотрансформации (в частности, цитохромов P450) и транспортных белков на уровнях, близких к первичным гепатоцитам человека, что позволяет считать данную линию

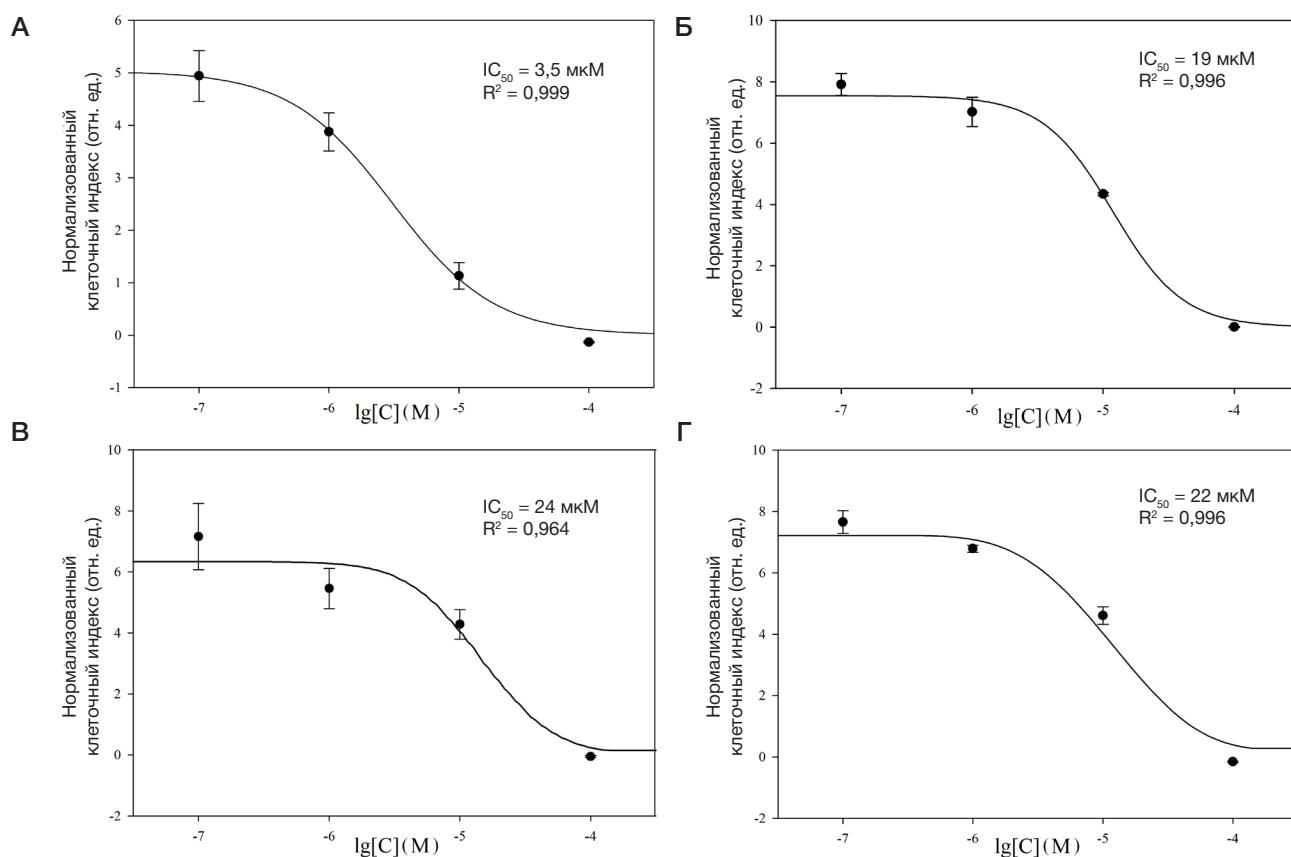


Рис. 1. Зависимость клеточного индекса клеток линии HepaRG от логарифма концентрации амиодарона (клеточный индекс нормализован по времени добавления среды, содержащей исследуемое вещество). **А.** Изменение клеточного индекса при действии амиодарона в концентрациях 0,1, 1, 10 и 100 мкМ. **Б.** Изменение клеточного индекса при действии серии разведений амиодарона в присутствии 100 мкМ витамина Е. **В.** Изменение клеточного индекса при действии серии разведений амиодарона в присутствии 100 мкМ N-ацетилцистеина. **Г.** Изменение клеточного индекса при действии серии разведений амиодарона в присутствии 100 мкМ S-аденозилметионина

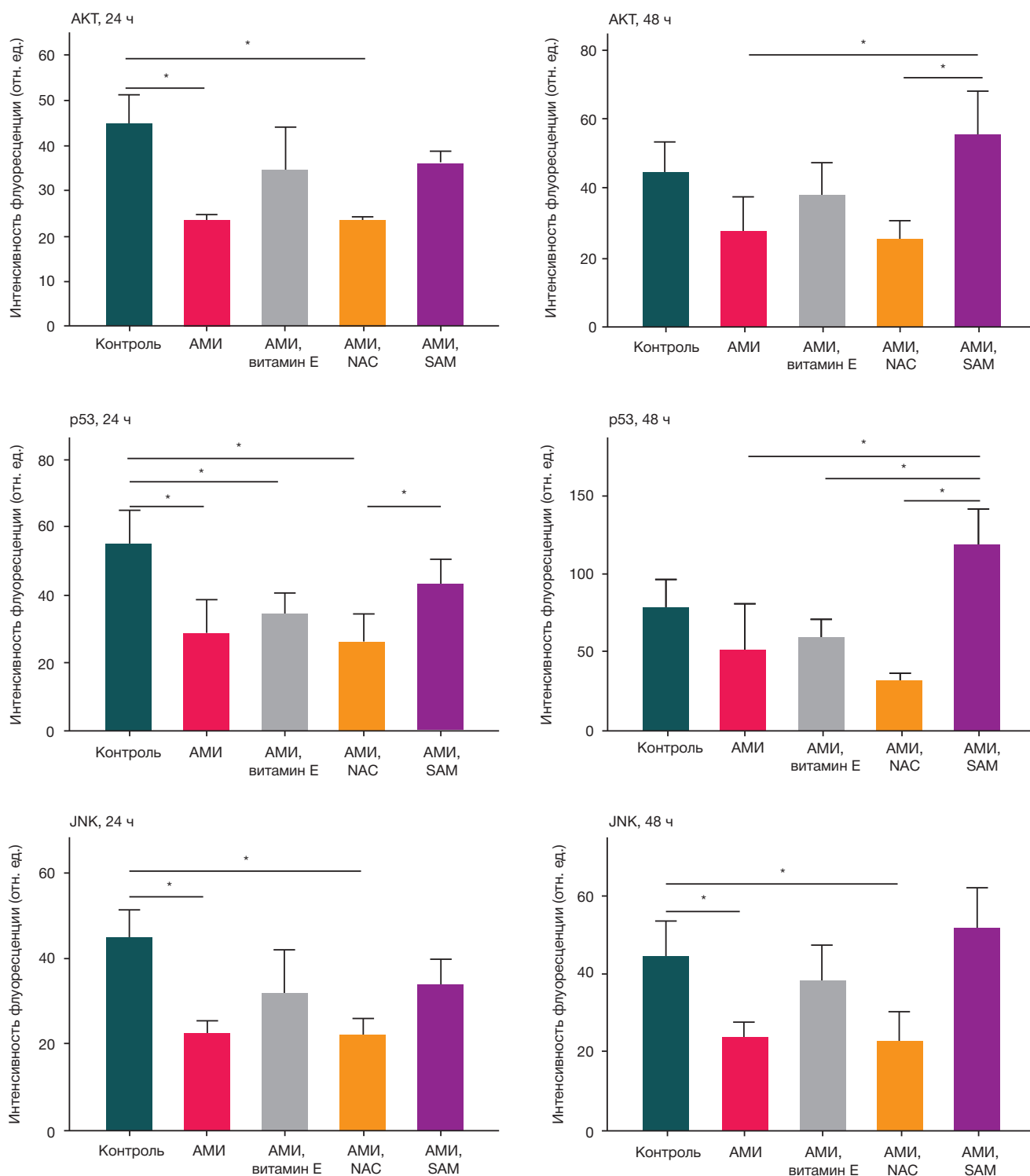


Рис. 2. Интенсивность флуоресценции фосфорилированных АКТ киназы (Ser473), белка p53 (Ser46), JNK киназы (Thr183/Tyr185) в лизатах клеток линии *HepaRG* после воздействия амиодарона в концентрации 10 мкМ (АМИ) и на фоне действия 100 мкМ витамина E, 100 мкМ N-ацетилцистеина (NAC) и 100 мкМ S-аденозилметионина (SAM) при инкубации 24 и 48 ч. * — $p < 0,05$

оптимальной для моделирования гепатотоксических эффектов *in vitro* [15, 16]. В исследованиях оценки потенциальной гепатотоксичности лекарственных средств с использованием многопараметрического анализа клеточная линия *HepaRG* показала наибольшую чувствительность [17, 18].

Таким образом, целью работы было исследование цитопротекторного действия антиоксидантов в модели амиодарон-индуцированной цитотоксичности клеток гепатомы человека линии *HepaRG*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клетки гепатомы человека линии *HepaRG* (Gibco; США) культивировали в полной питательной среде, которая состояла из среды Williams' E с 10% фетальной бычьей сыворотки, 5 мкг/мл инсулина, 10 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 50 мкМ гидрокортизона гемисукцината и 2 мМ L-глутамин в атмосфере CO₂-инкубатора (5% CO₂) при температуре 37 °С и насыщающей влажности.

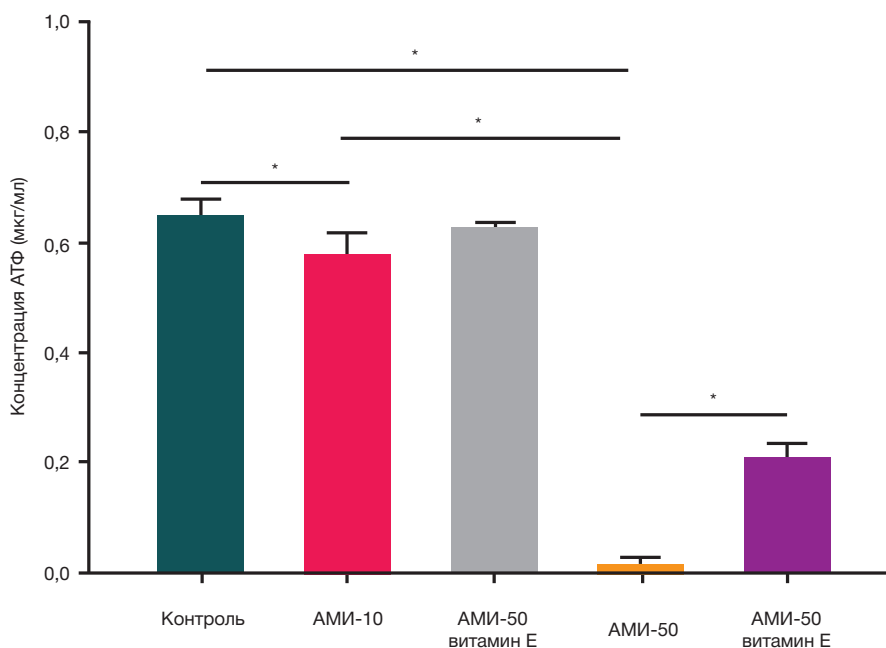


Рис. 3. Концентрация АТФ в лизатах клеток линии *HepaRG* после 24 ч воздействия амиодарона в концентрациях 10 мкМ (АМИ-10) и 50 мкМ (АМИ-50) и на фоне действия витамина Е. * — $p < 0,05$

Для определения цитотоксичности амиодарона использовали оборудование xCELLigence RTCA (ACEA; США). С помощью программного обеспечения RTCA Software 2.0 (ACEA; США) на основании анализа изменений импеданса во времени рассчитывали клеточный индекс, характеризующий жизнеспособность клеток. До начала эксперимента измеряли значение импеданса для питательной среды в отсутствие клеток, затем в каждую лунку 96-луночного планшета вносили по 10 тыс. клеток линии *HepaRG* и культивировали в течение суток. После этого в среду добавляли амиодарон (в диапазоне концентраций от 0,1 до 100 мкМ) и исследуемые антиоксиданты (витамин Е, NAC и SAM в концентрации 100 мкМ). В качестве контроля использовали клетки в полной питательной среде.

Оценку молекулярных маркеров повреждения клеток проводили с использованием иммунофлуоресцентного анализатора Bio-Plex 200 (Bio-Rad; США). Маркеры апоптоза оценивали в клеточных лизатах, а маркеры повреждения гепатоцитов в кондиционных средах. Для получения кондиционных сред и лизатов клетки гепатомы человека линии *HepaRG* вносили в 24-луночный планшет в количестве 400 тыс. клеток на лунку и культивировали в полной питательной среде. На следующий день после пассажа осуществляли замену среды на среду, содержащую амиодарон в концентрации 10 мкМ, исследуемые антиоксиданты в концентрации 100 мкМ. Инкубировали образцы в течение 24 и 48 ч. Каждую экспериментальную концентрацию изучаемых соединений вносили не менее чем в трех повторах. Для мультиплексного анализа использовали следующие наборы: MILLIPLEX MAP Human Liver Injury Magnetic Bead Panel (Cat.HLINJMAG-75K; Merck, США), MILLIPLEX MAP Human Early Apoptosis Magnetic Bead 6-Plex Kit (Cat. 48-669MAG; Merck, США) и панель Bio-PlexPro™ Human Cytokine 27-plex (Cat.M500KCAF0Y; Bio-Rad, США).

Определение АТФ в лизатах клеток линии *HepaRG* выполняли с использованием набора ATP Bioluminescent Assay Kit (Cat. FLASC; Sigma-Aldrich, США). Интенсивность люминесценции измеряли на планшетном флуориметре

FLx800 (BioTek; США). Первичную обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения Gen5 1.10 (BioTek; США).

Для статистического анализа и построения графиков использовали программное обеспечение SigmaPlot 12.5 (SystatSoftware Inc; США). Нормальность выборки оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Для сравнения значимости различий средних использовали однофакторный дисперсионный анализ в случае нормального распределения и тест Краскела–Уоллиса в случае распределения, отличающегося от нормального. Статистическую значимость различий принимали при $p < 0,05$. Результаты выражали как среднее \pm стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рассчитанная в результате мониторинга цитотоксичности IC_{50} амиодарона для клеток гепатомы человека линии *HepaRG* составила 3,5 мкМ (рис. 1). Использование гепатопротекторов с антиоксидантными свойствами привело к статистически значимому повышению клеточного индекса по сравнению с амиодароном. Так, значение IC_{50} , определенное для амиодарона в присутствии витамина Е, оказалось равным 19 мкМ, для N-ацетилцистеина — 24 мкМ, для S-аденозилметионина — 22 мкМ.

Для оценки механизмов цитотоксичности амиодарона проанализировали содержание некоторых киназ, регулирующих клеточный цикл в клеточных лизатах, а также содержание внутриклеточных ферментов в кондиционных средах. Воздействие амиодарона (10 мкМ) на клетки в течение 24 и 48 ч приводило к снижению уровней фосфорилированных АКТ и JNK киназ, а также белка p53 (рис. 2). Иными словами, амиодарон вызывает снижение активности факторов, регулирующих клеточный цикл, и способствует запуску клеточной гибели, чем можно объяснить его высокую цитотоксичность. В лизатах клеток после обработки амиодароном (10 мкМ) в присутствии витамина Е или S-аденозилметионина содержание активных форм АКТ и JNK киназ не отличалось от контроля.

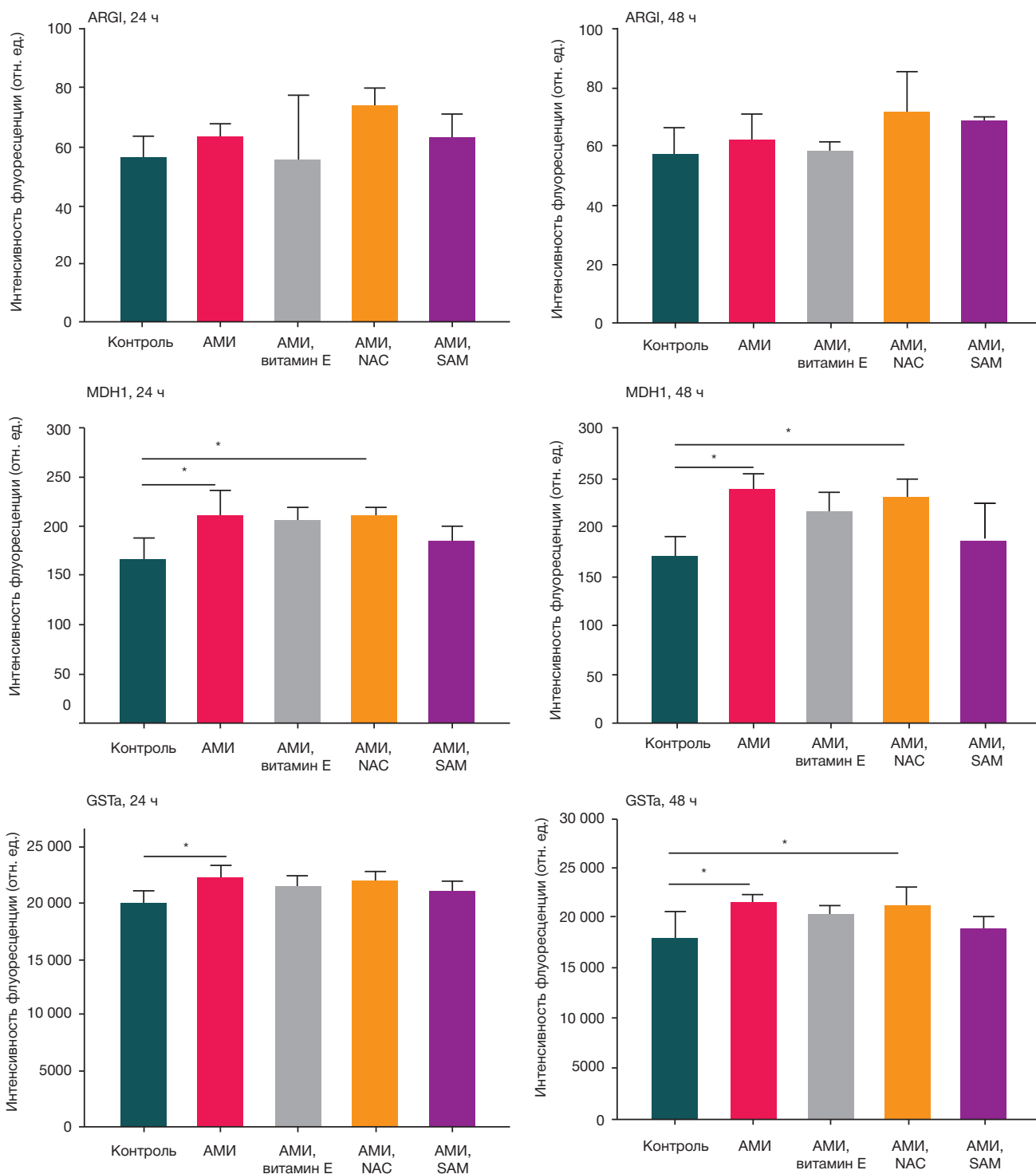


Рис. 4. Интенсивность флуоресценции аргиназы 1 (ARG1), малатдегидрогеназы 1 (MDH1), глутатион-S-трансферазы (GSTα) в кондиционной среде клеток линии *H9c2RG* после воздействия амиодарона в концентрации 10 мкМ (АМИ) и на фоне действия 100 мкМ витамина Е, 100 мкМ N-ацетилцистеина (NAC) и 100 мкМ S-аденозилметионина (SAM) при инкубации 24 и 48 ч. * — $p < 0,05$

В результате исследования установлено, что амиодарон в концентрациях 10 и 50 мкМ приводит к существенному снижению уровня АТФ в лизатах клеток *H9c2RG*, при этом снижение АТФ было дозозависимым (рис. 3). Витамин Е обеспечивал статистически значимое увеличение содержания внутриклеточного АТФ при обработке клеток амиодароном.

При оценке внеклеточных уровней ферментов было показано, что после обработки клеток амиодароном не происходит статистически значимого повышения уровня аргиназы 1 (рис. 4). Через 24 ч инкубации в присутствии

амиодарона наблюдали повышение содержания малатдегидрогеназы 1, глутатион-S-трансферазы и сорбитолдегидрогеназы в кондиционной среде (рис. 4, 5). Содержание 5'-нуклеотидазы статистически значимо повышалось через 48 ч. В присутствии витамина Е и S-аденозилметионина отмечено снижение содержания внутриклеточных ферментов MDH1, GSTα и SDH в кондиционной среде.

Анализ содержания цитокинов после инкубации клеток линии *H9c2RG* в среде с амиодароном (10 мкМ) показал, что в результате действия амиодарона происходит

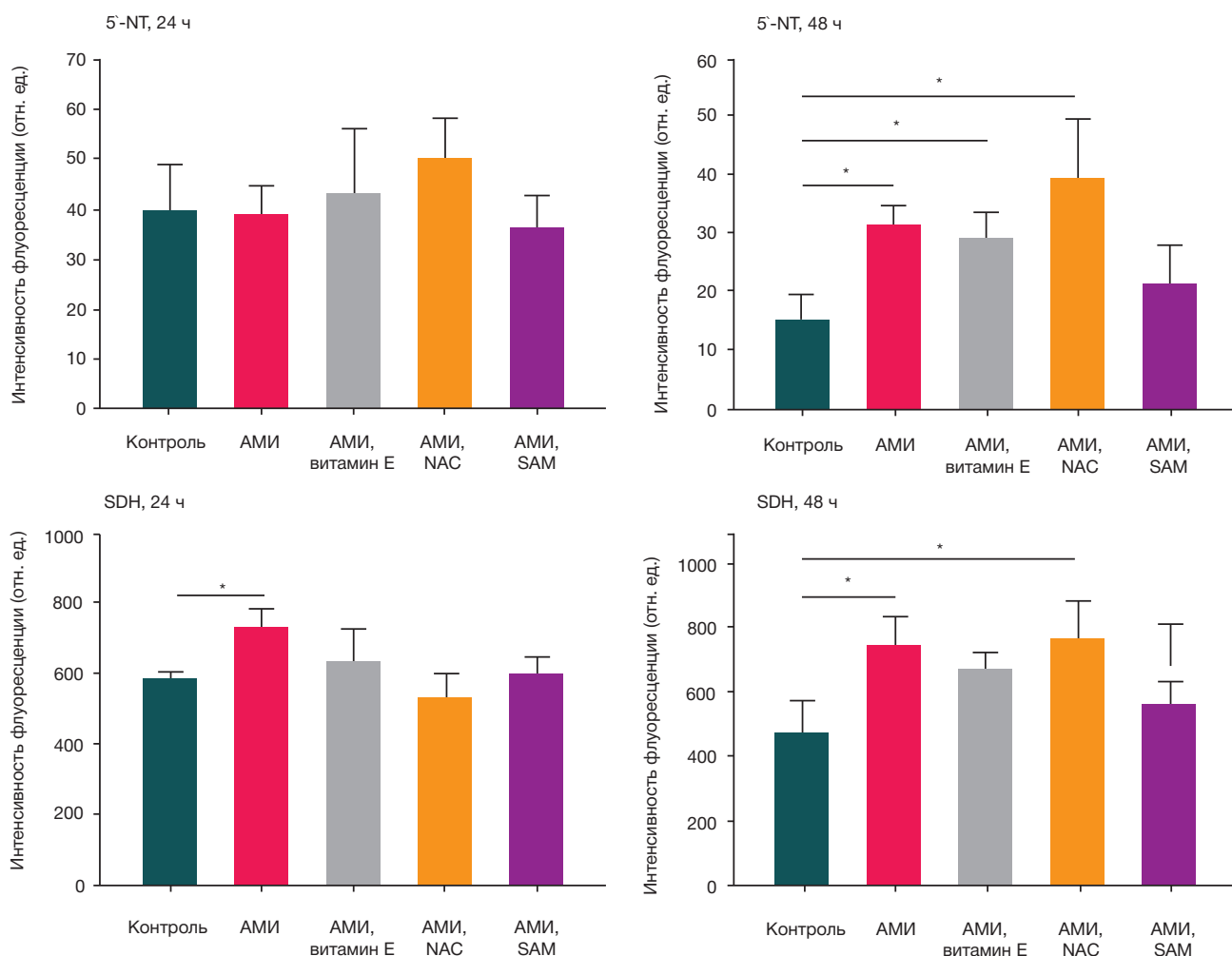


Рис. 5. Интенсивность флуоресценции нуклеотидазы (5'-NT), сорбитолдегидрогеназы (SDH) в кондиционной среде клеток линии *HepaRG* после воздействия амиодарона в концентрации 10 мкМ (AMI) и на фоне действия 100 мкМ витамина E, 100 мкМ N-ацетилцистеина (NAC) и 100 мкМ S-аденозилметионина (SAM) при инкубации 24 и 48 ч. * — $p < 0,05$

статистически значимое и наиболее выраженное увеличение содержания провоспалительных факторов IL1 β , IL6, IL8, IFN γ , TNF α (рис. 6). Одновременно отмечено и увеличение содержания противовоспалительного цитокина IL10. Эффект антиоксидантов проявился в снижении содержания анализируемых цитокинов в кондиционных средах.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сообщения о побочных эффектах применения амиодарона появились в конце XX в., после начала его широкого использования в качестве антиаритмического средства [19]. По своей структуре амиодарон относится к катионным амфифильным веществам, кроме того, он имеет длительный период полувыведения в завершающей фазе элиминации, который может достигать 150 дней [8]. Амиодарон и его метаболиты способны накапливаться в легких, скелетных мышцах, жировой ткани, печени и оказывать токсическое действие. При этом степень повреждения печени существенно варьирует от незначительного повышения уровня трансаминаз в сыворотке крови до острой печеночной недостаточности [4].

Длительный прием амиодарона *per os* приводит к накоплению жирных кислот и полярных липидов в гепатоцитах в результате угнетения фосфолипазы A и ферментов β -окисления жирных кислот. Накопление амиодарона отмечено в лизосомных липидных бислоях, что препятствует нормальной внутриклеточной деградации

мембранных фосфолипидов и приводит к фосфолипидозу [8, 20]. На клеточной линии гепатомы человека *HepaRG* было показано накопление триглицеридов и липидных капель после 14-дневной инкубации с амиодароном в концентрации 20 мкМ [21].

При этом механизмы развития гепатотоксических эффектов амиодарона до сих пор малоизучены.

Мы определили дозозависимое цитотоксическое действие амиодарона на клетки линии *HepaRG* в течение трех суток и рассчитали IC_{50} , которая составила 3,5 мкМ. Ранее цитотоксичность амиодарона была показана на клетках линии *HepG2*, где IC_{50} составила 105 мкМ [7]. При этом клетки линии *HepaRG* демонстрируют более высокий уровень экспрессии ферментов системы цитохромов P450 по сравнению с линией *HepG2*. А метаболиты амиодарона (моно- и ди-N-деэтиламиодарон), образующиеся после трансформации цитохромами, могут проявлять более высокую гепатотоксичность по сравнению с амиодароном [18].

Увеличение внутриклеточного содержания активных (фосфорилированных) форм киназ, регулирующих клеточный цикл, указывает на тип клеточной гибели и пути ее активации [22]. В нашем исследовании воздействие амиодарона привело к снижению уровня активных форм АКТ и JNK киназ и белка p53. Это указывает на то, что основным механизмом, запускающим клеточную гибель при воздействии амиодарона, является повреждение

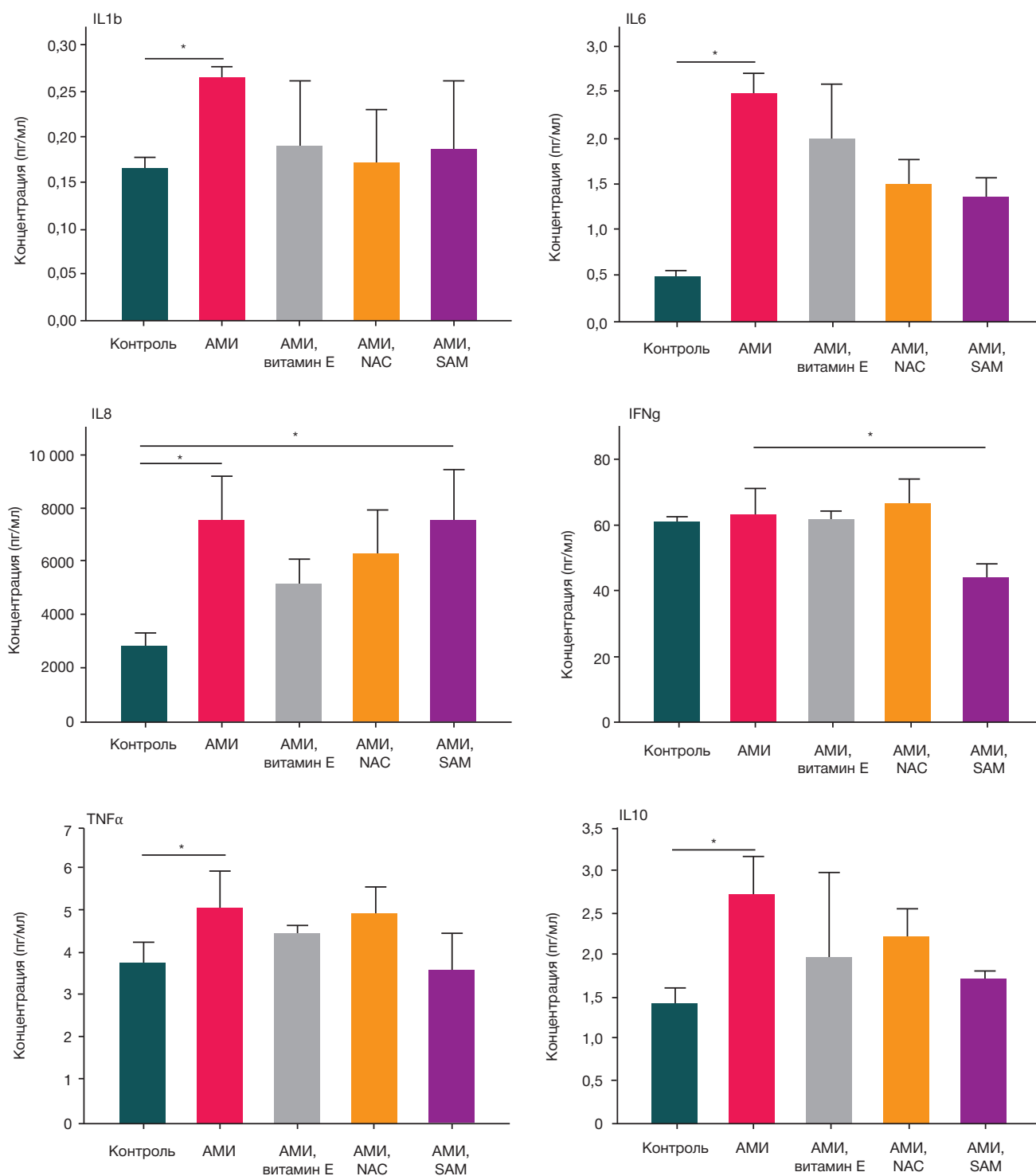


Рис. 6. Концентрация цитокинов IL1 β , IL6, IL8, IFN γ , TNF α и IL10 в кондиционной среде клеток линии *HepaRG* при инкубации 48 ч и воздействии амиодарона в концентрации 10 мкМ (АМИ) и на фоне действия 100 мкМ витамина Е, 100 мкМ N-ацетилцистеина (NAC), 100 мкМ S-аденозилметионина (SAM). * — $p < 0,05$

митохондрий. Уровень активной инициаторной каспазы-8 также снижается после обработки клеточной культуры амиодароном, что позволяет говорить о том, что гибель клетки идет по пути некроза, а не апоптоза.

Известно, что количество внутриклеточного АТФ является одним из показателей жизнеспособности клеток [23]. Истощение внутриклеточных запасов АТФ относят к одной из характерных черт некроза [24]. Выявленное снижение содержания АТФ в клетках и выход внутриклеточных ферментов в кондиционную среду также свидетельствуют о клеточной гибели по типу некроза.

Установлено также, что воздействие амиодарона приводит к увеличению содержания в кондиционной среде провоспалительных цитокинов IL1 β , IL6, IL8, IFN γ , TNF α и противовоспалительного IL10.

Вывождаемые при повреждении клеток внутриклеточные ферменты, цитокины и молекулярные паттерны DAMP, ассоциированные с повреждениями (danger associated molecular patterns), вызывают активацию иммунных клеток врожденного иммунитета [25]. Активированные клетки Купфера, нейтрофилы и другие резидентные клетки печени выделяют различные цитокины, что может приводить

к запуску апоптоза через рецепторы смерти и развитию воспалительного ответа [22]. Таким образом, воздействие амиодарона может вызывать как некроз, так и апоптоз, что согласуется с ранее опубликованными данными о цитостатических эффектах амиодарона [26, 27].

Таким образом, на модели гепатомы человека линии *HepaRG* показано, что гибель клеток, вызванная воздействием амиодарона в течение 48 ч, происходит в результате некроза.

Предполагается, что одной из основных причин цитотоксичности амиодарона является окислительный стресс [7]. Ранее на различных клеточных моделях (первичные гепатоциты крыс, клетки линии *HepG2*, *L929*) было продемонстрировано, что антиоксиданты защищают клетки от цитотоксического действия амиодарона [7, 11, 28]. Мы исследовали влияние соединений с антиоксидантными свойствами на амиодарон-индуцированную цитотоксичность в клетках гепатомы человека линии *HepaRG*. Витамин E, S-аденозилметионин и N-ацетилцистеин снижают цитотоксичность амиодарона и приводят к увеличению величины IC_{50} . Витамин E и S-аденозилметионин обеспечивали снижение секреции ключевых провоспалительных цитокинов IL1 β и IL6, индуцированное амиодароном.

Вышеперечисленные результаты подтверждают, что амиодарон может индуцировать в клетке развитие окислительного стресса. Исследованные нами витамин E, S-аденозилметионин и N-ацетилцистеин являются зарегистрированными лекарственными средствами и могут быть рекомендованы в качестве гепатопротекторов при терапии амиодароном.

ВЫВОДЫ

Амиодарон оказывает на клетки гепатомы человека линии *HepaRG* цитотоксическое действие (IC_{50} — 3,5 мкМ). Клеточная гибель развивается на фоне снижения активных форм факторов, регулирующих клеточный цикл, таких как киназы AKT, JNK и белок p53. Действие амиодарона приводит к цитолизу, сопровождающемуся повышением содержания внутриклеточных ферментов (MDH1, GST α , SDH и 5'-NT) в кондиционной среде. Исследованные соединения с антиоксидантными свойствами витамин E, N ацетилцистеин и S-аденозилметионин снижают цитотоксичность амиодарона в клетках гепатомы человека линии *HepaRG* и могут быть рассмотрены как потенциальные гепатопротекторы при лечении амиодароном.

Литература

- Ивашкин В. Т., Барановский А. Ю., Райхельсон К. Л. и др. Лекарственные поражения печени (клинические рекомендации для врачей). Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2019; 29 (1): 101–31.
- Stine JG, Lewis JH. Current and future directions in the treatment and prevention of drug-induced liver injury: a systematic review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 10 (4): 517–36.
- Mujović N, Dobrev D, Marinković M, et al. The role of amiodarone in contemporary management of complex cardiac arrhythmias. *Pharmacol Res*. 2020; 151: 104521.
- Hashmi A, Keswani NR, Kim S, et al. Hepatic dysfunction in patients receiving intravenous amiodarone. *South Med J*. 2016; 109 (2): 83–6.
- Waldhauser KM, Török M, Ha H-R, et al. Hepatocellular toxicity and pharmacological effect of amiodarone and amiodarone derivatives. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006; 319 (3): 1413–23.
- Serviddio G, Bellanti F, Giudetti AM, et al. Mitochondrial oxidative stress and respiratory chain dysfunction account for liver toxicity during amiodarone but not dronedarone administration. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51 (12): 2234–42.
- Golli-Bennour EE, Bouslimi A, Zouaoui O, et al. Cytotoxicity effects of amiodarone on cultured cells. *Exp Toxicol Pathol*. 2012; 64 (5): 425–30.
- Schumacher JD, Guo GL. Mechanistic review of drug-induced steatohepatitis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2015; 289 (1): 40–7.
- Grünig D, Duthaler U, Krähenbüh S. Effect of Toxicants on Fatty Acid Metabolism in HepG2 Cells. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 257.
- Erez N, Hubel E, Avraham R, et al. Hepatic amiodarone lipotoxicity is ameliorated by genetic and pharmacological inhibition of endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Sci*. 2017; 159 (2): 402–12.
- Durukan AB, Erdem B, Durukan E, et al. May toxicity of amiodarone be prevented by antioxidants? A cell-culture study. *J Cardiothorac Surg*. 2012; 7 (1): 61.
- Galli F, Azzi A, Birringer M, et al. Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radic Biol Med*. 2017; 102: 16–36.
- Chughlay MF, Kramer N, Spearman CW, et al. N-acetylcysteine for non-paracetamol drug-induced liver injury: a systematic review. *Br J Clin Pharmacol*. 2016; 81: 1021–9.
- Anstee QM, Day CP. S-adenosylmethionine (SAME) therapy in liver disease: A review of current evidence and clinical utility. *J Hepatol*. 2012; 57 (5): 1097–109.
- Aninat C, Piton A, Glaise D, et al. Expression of cytochromes P450, conjugating enzymes and nuclear receptors in human hepatoma HepaRG cells. *Drug Metab Dispos*. 2006; 34 (1): 75–83.
- Yokoyama Y, Sasaki Y, Terasaki N, et al. Comparison of drug metabolism and its related hepatotoxic effects in HepaRG, cryopreserved human hepatocytes, and HepG2 cell cultures. *Biol Pharm Bull*. 2018; 41 (5): 722–32.
- Tomida T, Okamura H, Yokoi T, et al. A modified multiparametric assay using HepaRG cells for predicting the degree of drug-induced liver injury risk. *J Appl Toxicol*. 2017; 37 (3): 382–90.
- Wu Y, Geng X, Wang J, et al. The HepaRG cell line, a superior in vitro model to L-02, HepG2 and hiHeps cell lines for assessing drug-induced liver injury. *Cell Biol Toxicol*. 2016; 32 (1): 37–59.
- McGovern B, Garan H, Ruskin JN. Serious adverse effects of amiodarones. *Clin Cardiol*. 1984; 7 (3): 131–7.
- Pessayre D, Fromenty B, Berson A, et al. Central role of mitochondria in drug-induced liver injury. *Drug Metab Rev*. 2012; 44 (1): 34–87.
- Anthérieu S, Rogue A, Fromenty B, et al. Induction of vesicular steatosis by amiodarone and tetracycline is associated with up-regulation of lipogenic genes in heparg cells. *Hepatology*. 2011; 53 (6): 1895–905.
- Ye H, Nelson LJ, Gómez del Moral M, et al. Dissecting the molecular pathophysiology of drug-induced liver injury. *World J Gastroenterol*. 2018; 24 (13): 1373–85.
- Yuan L, Kaplowitz N. Mechanisms of drug induced liver injury. *Clin Liver Dis*. 2013; 17 (4): 507–18.
- Iorga A., Dara L. Cell death in drug-induced liver injury. *Adv Pharmacol*. 2019; 85: 31–74.
- Ali SE, Waddington JC, Park BK, et al. Definition of the Chemical and Immunological Signals Involved in Drug-Induced Liver Injury. *Chem Res Toxicol*. 2020; 33 (1): 61–76.
- Bognar Z, Fekete K, Antus C, et al. Desethylamiodarone — A metabolite of amiodarone — Induces apoptosis on T24 human bladder cancer cells via multiple pathways. *PLoS One*. 2017; 12 (12): e0189470.
- Steinberg E, Fluksman A, Zemmour C, et al. Low dose amiodarone reduces tumor growth and angiogenesis. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 18034.
- Abdulhaleq F, Alhussainy T, Badr M, et al. Antioxidative stress effects of vitamins C, E, and B12, and their combination can protect the liver against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2018; 12: 3525–33.

References

- Ivashkin VT, Baranovsky AY, Raikhelson KL, i dr. Lekarstvennye porazheniya pecheni (klinicheskie rekomendacii dlja vrachej). Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii. 2019; 29 (1): 101–31. Russian.
- Stine JG, Lewis JH. Current and future directions in the treatment and prevention of drug-induced liver injury: a systematic review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016; 10 (4): 517–36.
- Mujović N, Dobrev D, Marinković M, et al. The role of amiodarone in contemporary management of complex cardiac arrhythmias. *Pharmacol Res*. 2020; 151: 104521.
- Hashmi A, Keswani NR, Kim S, et al. Hepatic dysfunction in patients receiving intravenous amiodarone. *South Med J*. 2016; 109 (2): 83–6.
- Waldhauser KM, Török M, Ha H-R, et al. Hepatocellular toxicity and pharmacological effect of amiodarone and amiodarone derivatives. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006; 319 (3): 1413–23.
- Serviddio G, Bellanti F, Giudetti AM, et al. Mitochondrial oxidative stress and respiratory chain dysfunction account for liver toxicity during amiodarone but not dronedarone administration. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51 (12): 2234–42.
- Golli-Bennour EE, Bouslimi A, Zouaoui O, et al. Cytotoxicity effects of amiodarone on cultured cells. *Exp Toxicol Pathol*. 2012; 64 (5): 425–30.
- Schumacher JD, Guo GL. Mechanistic review of drug-induced steatohepatitis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2015; 289 (1): 40–7.
- Grünig D, Duthaler U, Krähenbühl S. Effect of Toxicants on Fatty Acid Metabolism in HepG2 Cells. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 257.
- Erez N, Hubel E, Avraham R, et al. Hepatic amiodarone lipotoxicity is ameliorated by genetic and pharmacological inhibition of endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Sci*. 2017; 159 (2): 402–12.
- Durukan AB, Erdem B, Durukan E, et al. May toxicity of amiodarone be prevented by antioxidants? A cell-culture study. *J Cardiothorac Surg*. 2012; 7 (1): 61.
- Galli F, Azzi A, Birringer M, et al. Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radic Biol Med*. 2017; 102: 16–36.
- Chughlay MF, Kramer N, Spearman CW, et al. N-acetylcysteine for non-paracetamol drug-induced liver injury: a systematic review. *Br J Clin Pharmacol*. 2016; 81: 1021–9.
- Anstee QM, Day CP. S-adenosylmethionine (SAME) therapy in liver disease: A review of current evidence and clinical utility. *J Hepatol*. 2012; 57 (5): 1097–109.
- Aninat C, Piton A, Glaise D, et al. Expression of cytochromes P450, conjugating enzymes and nuclear receptors in human hepatoma HepaRG cells. *Drug Metab Dispos*. 2006; 34 (1): 75–83.
- Yokoyama Y, Sasaki Y, Terasaki N, et al. Comparison of drug metabolism and its related hepatotoxic effects in HepaRG, cryopreserved human hepatocytes, and HepG2 cell cultures. *Biol Pharm Bull*. 2018; 41 (5): 722–32.
- Tomida T, Okamura H, Yokoi T, et al. A modified multiparametric assay using HepaRG cells for predicting the degree of drug-induced liver injury risk. *J Appl Toxicol*. 2017; 37 (3): 382–90.
- Wu Y, Geng X, Wang J, et al. The HepaRG cell line, a superior in vitro model to L-02, HepG2 and hiHeps cell lines for assessing drug-induced liver injury. *Cell Biol Toxicol*. 2016; 32 (1): 37–59.
- McGovern B, Garan H, Ruskin JN. Serious adverse effects of amiodarones. *Clin Cardiol*. 1984; 7 (3): 131–7.
- Pessayre D, Fromenty B, Berson A, et al. Central role of mitochondria in drug-induced liver injury. *Drug Metab Rev*. 2012; 44 (1): 34–87.
- Anthérieu S, Rogue A, Fromenty B, et al. Induction of vesicular steatosis by amiodarone and tetracycline is associated with up-regulation of lipogenic genes in heparg cells. *Hepatology*. 2011; 53 (6): 1895–905.
- Ye H, Nelson LJ, Gómez del Moral M, et al. Dissecting the molecular pathophysiology of drug-induced liver injury. *World J Gastroenterol*. 2018; 24 (13): 1373–85.
- Yuan L, Kaplowitz N. Mechanisms of drug induced liver injury. *Clin Liver Dis*. 2013; 17 (4): 507–18.
- Iorga A., Dara L. Cell death in drug-induced liver injury. *Adv Pharmacol*. 2019; 85: 31–74.
- Ali SE, Waddington JC, Park BK, et al. Definition of the Chemical and Immunological Signals Involved in Drug-Induced Liver Injury. *Chem Res Toxicol*. 2020; 33 (1): 61–76.
- Bognar Z, Fekete K, Antus C, et al. Desethylamiodarone — A metabolite of amiodarone — Induces apoptosis on T24 human bladder cancer cells via multiple pathways. *PLoS One*. 2017; 12 (12): e0189470.
- Steinberg E, Fluksman A, Zemmour C, et al. Low dose amiodarone reduces tumor growth and angiogenesis. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 18034.
- Abdulkhaleq F, Alhussainy T, Badr M, et al. Antioxidative stress effects of vitamins C, E, and B12, and their combination can protect the liver against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2018; 12: 3525–33.