

В. П. Твердохлиб, доктор медицинских наук, профессор, Академик Российской академии медико-технических наук, профессор кафедры «Производственный менеджмент» Оренбургского государственного института менеджмента
e-mail: tdv2@rambler.ru

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАННИХ ХИМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ И ИХ АДАПТАЦИОННАЯ КОРРЕКЦИЯ

В связи с неблагоприятными тенденциями динамики здоровья населения и для понимания процессов адаптации к многофакторному воздействию токсических факторов химического производства, сохраняют свою актуальность комплексные исследования маркеров экологического риска. Средовые и промышленные токсиканты, а также лекарства, в первую очередь вызывают разнообразные по клиническим проявлениям и механизмам развития патологические изменения в печени. Таким образом, химически индуцированная патология печени является важной проблемой современной медицины. Печень – мультифункциональный орган, играющий основную роль в метаболизме, т.е. биосинтезе, секреции, детоксикации и экскреции различных веществ, в процессах, которые требуют больших затрат энергии. Именно поэтому печень является высокоаэробной, кислородзависимой тканью, весьма чувствительной к аноксии и восприимчивой к ишемии. Это также обуславливает высокую чувствительность гепатоцитов к повреждающему действию различных токсикантов, медикаментов. Этому способствуют анатомические и физиологические особенности печени.

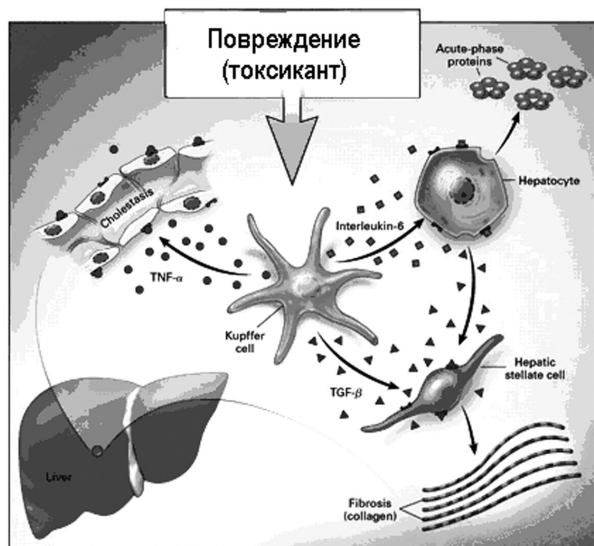


Рис. 1. Этапы токсического поражения печени

Благодаря реакциям окисления, протекающим в печени, многие ксенобиотики, первично нетоксичные, способны превращаться в более токсичные метаболиты, что еще более повреждает саму

печень. Существенное значение для реализации токсического действия ксенобиотиков имеет состояние ферментных систем, участвующих в их метаболической активации и детоксикации. Генетически детерминированный или измененный вследствие индукции или ингибирования набор изоферментов цитохрома P450, ферментов конъюгации может объяснить различную индивидуальную чувствительность к действию гепатотоксинов под влиянием факторов окружающей среды, питания, фармакотерапии. Показано, что гепатоциты крыс с высокой активностью цитохрома P4502E1 более чувствительны к четыреххлористому углероду и парацетамолу, чем клетки с низкой активностью. Индукторы этого фермента (этанол, ацетон, голодание) усиливают, а ингибиторы (диэтилдитиокарбамат и диметилсульфоксид) ослабляют токсичность этих веществ. Гепатотоксины могут вызывать гибель клеток как по механизмам некроза, так и апоптоза, а соотношение между этими процессами определяется дозой, применением протекторов и другими факторами. Основными этапами некроза является повреждение плазматической мембраны, набухание митохондрий и всей клетки, потеря внутриклеточных компонентов, дезинтеграция ядра с последующим фагоцитозом погибших гепатоцитов. Некротическая смерть клетки сопровождается развитием активного воспалительного процесса и повреждениями окружающих тканей. Непосредственной причиной некроза является окислительный стресс и перекисидация липидов, образование аддуктов ксенобиотиков с биологически важными макромолекулами; повреждение митохондрий и нарушение продукции энергии, разрушение цитоскелета. Апоптоз же – это генетически запрограммированный процесс, при котором клетка сама активно способствует своей гибели. Апоптоз запускается через специальные «рецепторы смерти» на поверхности клетки или нерцепторным путем, что ведет к активации регуляторных белков, которые останавливают митотическую активность клетки, вызывают фрагментацию ДНК и деградацию жизненно важных белков. Ранним проявлением апоптоза является падение электрохимического потенциала митохондриальной мембраны и повышение продукции активных форм кислорода. Однако послед-

ние исследования показали, что различия между некрозом и апоптозом на стадии их инициации не столь очевидны, и одни и те же факторы (например, активные формы кислорода, оксид азота) могут стимулировать оба процесса. Повреждение митохондрий и ограничение β – окисления приводит к этерификации жирных кислот и их накоплению в виде триацилглицеринов, лишает клетки энергии и нарушает их функцию. С. Р. Day с соавт. (2002) выдвинули гипотезу «двух толчков» («two hits» hypothesis), согласно которой комбинация различных факторов (воздействие токсических агентов или/и ожирение) приводит к развитию стеатоза путем увеличения липолиза и высвобождения свободных жирных кислот в печени – т.н. «первый толчок». Накопление жирных кислот уже само по себе может быть причиной нарушения работы печени, поскольку жирные кислоты химически очень активны и могут повреждать биологические мембраны, приводить к набуханию митохондрий, повышенной склонности их к разрушению и усилению мембранной проницаемости. Предполагается, что наличия окисляемого жира в печени достаточно, чтобы явиться триггером каскада ПОЛ. Второй толчок – это стимуляция образования свободных радикалов – дополнительный источник окислительного стресса, инициирующий ПОЛ и преодолевающий механизмы нормальной клеточной защиты и приводящий к появлению некроза и вторичного воспаления. Согласно результатам недавно проведенного А. Verson и соавт. исследования, «второй толчок» является источником свободных радикалов, способных вызывать окислительный стресс.

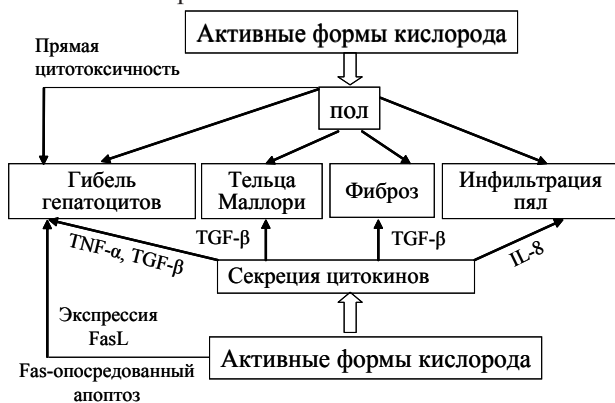


Рис. 2. Реактивные формы кислорода и механизмы реализации окислительного стресса в клетках печени

На фоне жировой инфильтрации печени активируются процессы ПОЛ, эффектами которых можно объяснить основную часть наблюдаемых при стеатогепатите гистологических изменений. Для развития воспаления требуется некоторый дополнительный источник окислительного стресса («второй толчок»), способный инициировать ПОЛ, преодолевающий механизмы нормальной клеточной защиты.

Это позволяет предполагать, что стеатоз каким-то образом повышает чувствительность гепатоцитов к токсическому воздействию ФНО- α и/или других цитокинов. Существует гипотеза, что такая сенсibilизация включает повышение восприимчивости гепатоцитов к дефициту АТФ, развивающемуся вследствие адаптационных изменений митохондрий в ответ на избыток субстратов окисления. Этот процесс зависит от антиоксидантного потенциала клетки. В норме гепатоциты резистентны к проапоптотическому действию ФНО- α [4]. Более того, показано, что у животных ФНО- α способствует регенерации печени после частичной гепатэктомии.

Но в данной ситуации энергетический дисбаланс в митохондриях, приводящий к снижению синтеза АТФ, усилению генерации АФК и развитию окислительного стресса, вызывает радикал-индуцированное цитотоксическое нарушение мембран, повреждение ДНК и, как следствие, гибель клеток.

Однако в условиях «окислительного стресса», сопровождающегося образованием свободных радикалов, активацией реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) и гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, ФНО- α способствует апоптозу клеток печени, развитию некроза и воспалительной клеточной инфильтрации. Это может приводить к нарушению клеточного микроокружения в печени и вызывать фенотипические изменения адаптационного характера в соседних гепатоцитах, в том числе изменения выработки энергии в митохондриях. Продукты ПОЛ и провоспалительные цитокины также вызывают активацию stellatных клеток. В результате последние начинают продуцировать избыточные количества соединительной ткани, что приводит к развитию фиброза, а при длительном персистировании процесса – и цирроза печени. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что инфильтрация жирными кислотами, а также избыточное образование продуктов ПОЛ способствует образованию фиброзной ткани в печени.

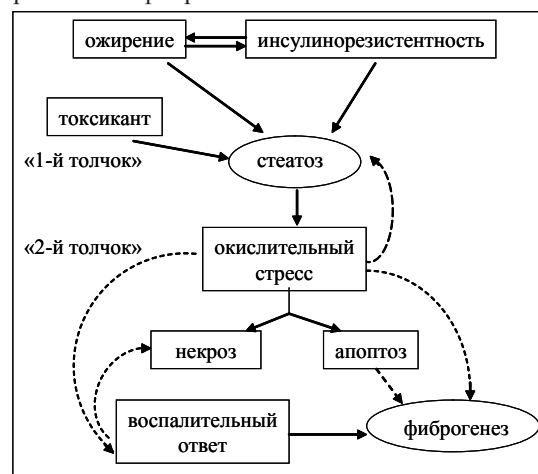


Рис. 3. Механизм развития повреждений печени в соответствии с гипотезой «двух толчков»

Таким образом, можно считать доказанным, что существует, по крайней мере, два основных патогенетических механизма – окислительный стресс и цитокин/эндотоксин опосредованное повреждение, которые являются общими для всех видов поражений печени.

Традиционные гепатопротекторные препараты имеют направленное действие на снижение процессов ПОЛ. В основе гепатопротекторного действия лекарственного средства силимарин, получаемого из плодов расторопши пятнистой, лежит способность препарата нейтрализовать свободные радикалы кислорода в тканях печени и тем самым препятствовать разрушению ее клеточных структур. Помимо этого препарат обладает способностью активировать фермент РНК-полимеразу и тем самым стимулировать синтез структурных и функциональных белков в поврежденных гепатоцитах.

Наиболее широко применяется комплексное лекарственное средство – «Эссенциале», содержащее набор «эссенциальных» фосфолипидов, витамины группы В, в том числе никотиновую и пантотеновую кислоты, а также другие биологически активные вещества. Комплекс способствует нормализации белкового и жирового обмена в тканях печени, повышает ее детоксикационную функцию, способствует восстановлению поврежденных мембран гепатоцитов. Известны и другие гепатопротекторы, но количество таких препаратов невелико и применяют их, как правило, при далеко зашедших стадиях повреждения печени.

Вместе с тем все более глубокие исследования молекулярных механизмов повреждения ткани печени привели к разработке немедикаментозных гепатопротекторных технологий. Одной из таких технологий стал метод адаптации организма животных и человека к периодическому действию регламентированных режимов гипоксии в условиях вакуумных барокамер или нормобарических установок «Горный воздух».

В последние годы в экспериментальных исследованиях была показана эффективность кратковременной адаптации к циклам «гипоксии и гипероксии» (ГП+ГО) и продемонстрирован мембранопротекторный эффект для печени, в отличие от курса «гипоксии-нормоксии» (ГП+НО), когда в печени наблюдали повышение чувствительности к свободнорадикальному окислению на фоне сниженного уровня компонентов антиоксидантной защиты. Кроме того, адаптационная защита в случае применения сочетанного курса ГП+ГО формировалась, в отличие от других режимов уже через 15 дней – устойчивость тканей печени и мозга к повреждающему действию увеличенной продукции АФК повышалась. Таким образом, применение

нового метода адаптации, сочетающего периодическую гипоксию и гипероксию, приводило к выраженному мембранопротекторному эффекту.

При сравнении методов традиционного ГП+НО и модифицированного адаптационного воздействия в режиме ГП+ГО в эксперименте было показано, что в первом случае наблюдается ингибирование некоторых ферментных систем в печени (каталазы и глутатионпероксидазы). Этот факт может указывать на слабый защитный эффект этого метода на клетки печени.

Напротив, при использовании адаптационного воздействия в режиме «гипоксия-гипероксия» не наблюдалось снижения резистентности мембранных структур к действию АФК. В этом случае снижение интенсивности свободнорадикального окисления происходило на фоне сохранения активности антиоксидантных ферментов. Такая тренировка предполагает использование периодического изменения уровня кислорода по обе стороны от нормоксии, т.е. применение периодически повторяющегося цикла, состоящего из последовательного сочетания умеренной гипоксии и гипероксии. Интервальная нормобарическая гипо- и гипероксическая тренировка в сумме дает такое изменение уровня кислорода, которое было бы невозможно реализовать при использовании только гипоксии, т.е. только снижения уровня кислорода по отношению к нормальному. Возможный механизм защитного эффекта данного метода по отношению к ткани печени в ответ на химическое поражение представлен на рис. 4. Показано, что использование гипероксической компоненты в режиме адаптации препятствует развитию т.н. «второго точка», то есть процессов, ведущих к снижению энергопроизводства и к некрозу гепатоцитов.

Применение новых видов адаптационных воздействий, основанных на комбинировании гипоксических и гипероксических периодов, позволяет повысить интенсивность свободнорадикального сигнала без побочных эффектов и сократить время достижения стадии долговременной адаптации. Таким образом, разработанная методика адаптационной защиты печени от токсических повреждений основана на молекулярных механизмах мобилизации энергетических ресурсов клетки в период гипоксии и восстановления энергетического запаса и немедикаментозного индуцирования его антиоксидантной защиты на этапе гипероксии.

Учет молекулярных механизмов функционирования гепатоцита в норме и при токсическом повреждении позволил разработать эффективный метод коррекции ранних повреждений печеночной ткани.

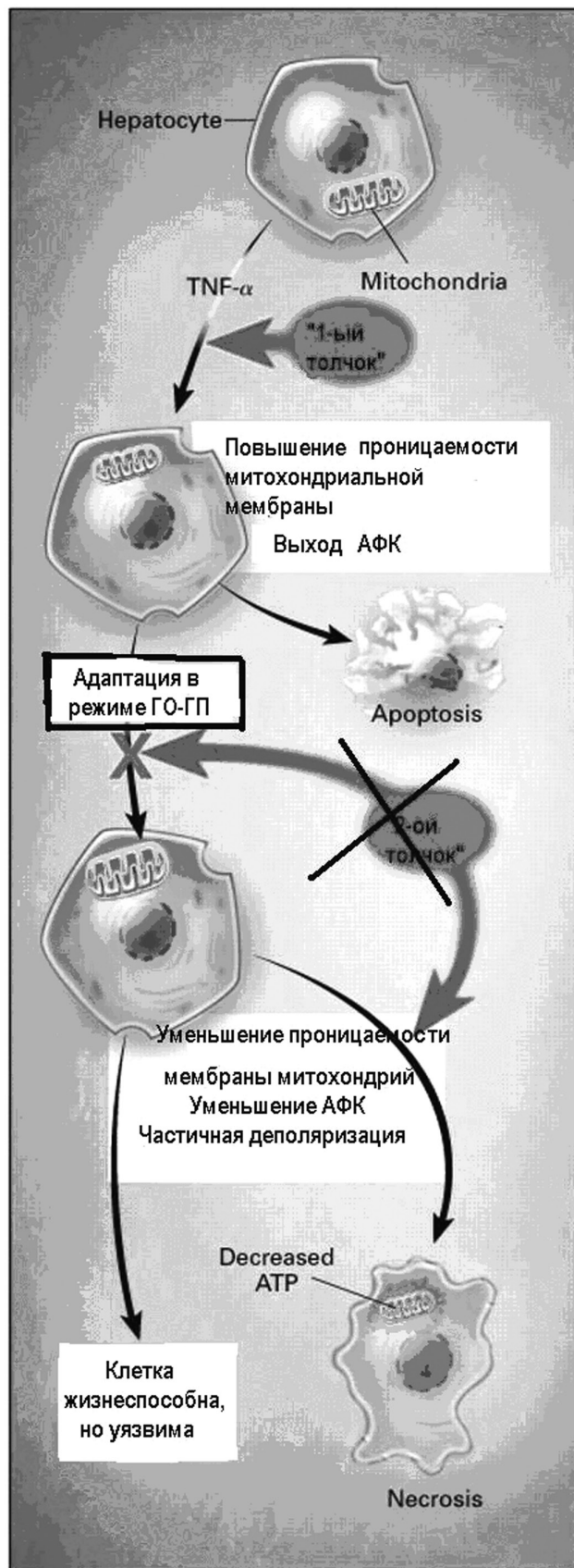


Рис. 4. Возможный механизм защитного действия адаптации в режиме «Гипоксия-гипероксия» на гепатоцит с позиции гипотезы «2-х толчков»