

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ТИОТРИАЗОЛИНА В ТЕРАПИИ*

**И.А. Мазур, Н.А. Волошин, И.С. Чекман,
Б.С. Зименковский, В.Р. Стец**

Лечение заболеваний печени с применением тиотриазолина

Частота заболеваний печени растет с каждым годом как в Украине, так и в других странах мира. По данным ВОЗ, патология печени занимает третье место после сердечно-сосудистой и онкологической патологии (Бабак О.Я., 1998; Подымова С.Д., 1999; Чекман И.С., 2001; Харченко Н.В., 2003—2004). Это связано с ухудшением экологического состояния окружающей среды, снижением уровня жизни людей, качеством потребляемых пищевых продуктов, увеличением употребления недоброкачественного алкоголя, широким распространением инфекционных и вирусных заболеваний. Особенностью течения заболеваний печени является: высокий уровень летальности в острый период болезни; значительная частота хронизации процесса с развитием инвалидности; ухудшением качества жизни пациентов, а также сокращение продолжительности их жизни (Хворостинка В.Н., Тесленко В.Л., 1993; Бабак О.Я., 1998; Амосова Е.Н., Лиховских О.Н., Брюзгина Т.Е., 1999; Коломоец М.Ю., Хухліна О.Г., 1999; Бабак О.Я., Фадеенко Г.Д., Игнатов В.А., 2001; Харченко Н.В., 2004).

Печень участвует в поддержании гомеостаза, являясь органом, обеспечивающим энергетические и пластические потребности организма и выполняющим защитную и дезинтоксикационную функцию. В печени постоянно происходит процесс обеззараживания экзо- и эндотоксинов, в том числе и токсинов, образующихся в процессе лечения, так как метаболизм большинства лекарственных препаратов происходит в печени. Печень — один из немногих органов в организме человека, способных к полной регенерации после повреждений, о чем знали в древности. Это уникальное свойство печени было положено в основу древнегреческого мифа о Прометее. Орел, клевавший ежедневно печень прикованного к скале Прометея, на следующий день находил ее полностью восстановленной. Тем не менее, печень легко уязвима и вовлекается во многие патологические процессы. Ее повреждения вызывают серьезные нарушения метаболизма, процессов дезинтоксикации, иммунного ответа и антимикробной защиты целого организма. Многие болезни печени, заканчивающиеся выздоровлением, оставляют «след» метаболического нарушения, который сохраняется на долгие годы и нередко переходит в хронический процесс (функциональная непрямая гипербилирубинемия и

др.), требующий длительной лекарственной коррекции. Наиболее часто повреждения печени (токсические, вирусные, лекарственные, метаболические и др.) реализуются через общие химические и иммунологические механизмы.

Химическое повреждение печени могут вызывать природные вещества, токсины различной природы, вирусы, канцерогены и ксенобиотики, включая лекарственные препараты, которые разобщают процесс окислительного фосфорилирования и свободного дыхания. Печень является мишенью для токсического действия ряда лекарственных препаратов, поскольку именно в ней происходит метаболизм ксенобиотиков. Гепатоциты печени функционируют в условиях высоких концентраций реактивных, токсических веществ, в том числе лекарственных препаратов. Последние могут быть токсичными в нативной форме или таковыми становятся в процессе их метаболизма. Процесс обезвреживания токсинов и ксенобиотиков в гепатоцитах протекает в две фазы: 1) метаболизм, то есть введение в структуру токсина полярных групп, с помощью цитохрома P450-гидроксилазной системы; 2) конъюгация молекул токсина с водорастворимыми лигандами. Оба процесса служат для элиминации чужеродных компонентов из внутренней среды организма. Микросомальная глутатион-S-трансфераза тесно связана с цитохромом P450-системой, что служит для быстрой инактивации активных метаболитов, в том числе алкоголя (Белоусов Ю.Б. и др., 1993; Буеверов А.О., Маевская М.В., Ивашкин В.Т., 2003; Lieber C.S., 1994).

Метаболизм лекарств осуществляется не только в гепатоцитах, но также в синусоидальных эндотелиальных клетках. Ряд лекарств проявляет селективную токсичность по отношению к этим клеткам. Подобная селективность связана с более слабыми защитными механизмами синусоидальных эндотелиальных клеток к действию ксенобиотиков, по сравнению с гепатоцитами. Процессы конъюгации катализируют чаще всего УДФ-глюкуронилтрансфераза, глутатион-S-трансфераза. Глюкуронизация является основным видом конъюгации при детоксикации веществ. Сульфатация, как правило, обеспечивает снижение токсичности и ускорение клиренса ксенобиотиков. Глутатион-S-трансферазная реакция важна для нестабильных электрофильных молекул. Если эти процессы детоксикации нарушаются, возникают деструктивные изменения в гепатоцитах и последующая их гибель.

Известно 5 основных механизмов, ведущих к гибели гепатоцитов:

- 1) повреждения плазматической мембраны и нарушения цитоскелета гепатоцитов;
- 2) нарушение функции митохондрий;
- 3) утрата внутриклеточного ионного гомеостаза;
- 4) активация литических внутрици-

* Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение. — Запорожье, Львов: Наутилус, 2005. — Гл. 3: Клиническое применение тиотриазолина в терапии. — С. 53—84.

топлазматических ферментов; 5) окислительный стресс в результате несоответствия прооксидантных и антиоксидантных ресурсов клетки.

Повреждения плазматической мембраны гепатоцитов

Токсины, ксенобиотики оказывают прямое и опосредованное действие на мембрану цитоскелета гепатоцитов, что сопровождается нарушениями их структуры с образованием разрывов в цитоплазматической мембране и может привести к гибели клетки. Плазматическая мембрана доступна для непосредственного повреждения экстрацеллюлярными детергентами или порообразующими белками (система комплемента, перфоринцитотоксических лимфоцитов, альфа-токсин бактерий). Повреждения липидного бислоя мембран, сопряженные с изменениями ее вязкости, как правило, связаны с активацией перекисного окисления липидов и истощением внутриклеточных запасов АТФ в митохондриях. Разрушение плазматической мембраны является этапом некротического механизма гибели клеток (Маянский Д.Н., Зубахин А.А., 2002). Это процесс, сопровождающийся выходом ферментов цитозоля: аспартатамино-трансаминазы (АСТ), аланинаминотрансаминазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в кровь, которые стали маркерами гепатита. Повышение активности ферментов, ассоциированных с мембранами билиарного полюса гепатоцитов и эпителием желчных протоков: гамма-глутаматтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), лейцинаминопептидазы (ЛАП), 5-нуклеотидазы — отражает нарушение тока желчи по протокам и развитие холестаза. Разрушение внутриклеточных органоидов сопровождается повышением активности ряда ферментов: гидролаз, локализованных в лизосомах; гидроксилаз и ацилаз, ответственных за детоксикацию; холинэстераз и церулоплазмину рибосом, а также ферментов, осуществляющих трансформацию непрямого билирубина в прямой (конъюгирование), находящихся в эндоплазматическом ретикулуле.

Эти ферменты являются маркерами деструкции гепатоцитов (цитоллиза) и широко используются в клинической практике для диагностики тяжести заболевания и контроля эффективности лечения патологических состояний печени (Консенсус, 2002). Тонкие механизмы процесса деструкции гепатоцитов описаны в работах (Стец В.Р. и др., 1988—1998; Бородин Т.В., 1999; Подымова С.Д., 1999; Дрогозов С.М. и др., 1995—2000; Буеверов А.О., Маевская М.В., Ивашкин В.Т., 2001; Маянский Д.Н., Зубахин А.А., 2002).

Нарушения функции митохондрий гепатоцитов

Повреждения механизмов окислительного фосфорилирования в митохондриях ведут к уменьшению фонда АТФ и последующей гибели клеток. Истощение резервов АТФ является причиной клеточной гибели при аноксии/гипоксии, окислительном стрессе и действии токсических ксенобиотиков. Стимуляция АТФ-потребляющих метаболических путей также не эффективна и ведет к истощению резерва АТФ. Повышение проницаемости внутренней мембраны митохондрий для электролитов и низкомолекулярных молекул обычно приводит к их деструкции и сочетается

с некрозом гепатоцитов независимо от концентрации АТФ, что детально описано на световом и электронно-микроскопическом уровне (Алексеева Т.И., Брызгина Т.М., Павлович С.И., 1991; Донцова Л.С., 2000).

Повреждение митохондрий гепатоцитов — наиболее ранний морфологический показатель деструкции паренхимы печени, которая проявляется повышением в крови уровня малатдегидрогеназы (МДГ) и глутаматдегидрогеназы (ГлДГ) — ферментов, находящихся в митохондриях. Неспецифическое повреждение внутренней митохондриальной мембраны чаще всего вызывается действием фосфолипазы или активацией перекисного окисления липидов.

Ферменты деградации веществ в цитоплазме гепатоцитов

При истощении резервов АТФ происходит активация нелизосомальных протеиназ в цитоплазме гепатоцитов. Активация литических ферментов деградации и расщепления веществ (протеиназ, липаз, нуклеаз, фосфолипаз и др.) ведет к повреждению мембран ядра и внутриклеточных органоидов, высвобождению арахидоновой кислоты и фрагментации ДНК. Установлена тесная корреляционная зависимость между интенсивностью нелизосомального протеолиза и гибелью гепатоцитов, что наблюдается при хроническом активном гепатите. В этих условиях возможно появление видоизмененных белков с новым антигенным фенотипом. Ускоренная деструкция фосфолипидов наблюдается при окислительных и аноксических повреждениях клетки. Большое значение в деградации фосфолипидов приписывают фосфолипазе А2. Активность фосфолипазы митохондрий играет ведущую роль в развитии внутриклеточных некротических изменений по сравнению с фосфолипазами цитозоля и лизосом.

Свободные радикалы и состояние антиоксидантной системы в гепатоцитах

Универсальным механизмом повреждения гепатоцитов независимо от этиологического фактора является образование свободных радикалов, реактивных метаболитов и угнетение активности ферментов антиоксидантной системы. Выделяют следующие реактивные молекулы, играющие роль в развитии деструктивного и некротического повреждения гепатоцитов: супероксидный радикал, гипохлорид, хлорамины, синглетный кислород, пероксирадикалы, гидроксильный радикал (Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М., 1991). Все перечисленные вещества являются агрессивными окислителями, они первоначально вызывают обратимые изменения липидов мембран клеток, ядра и органелл. Низкая активность ферментов антиоксидантной защиты (каталазы, супероксиддисмутазы и др.), малые запасы витамина Е, инактивирующие свободные радикалы, приводят к их стремительному накоплению. Количественные изменения переходят в качественные — наступает деструкция мембран с разрушением внутриклеточных органелл и клетки в целом.

Внутриклеточный гомеостаз

Утрата внутриклеточного ионного гомеостаза — это наиболее ранний признак цитотоксического

действия патогенных факторов. Повреждение клетки сопряжено с повышением концентрации ионов натрия, кальция и уменьшением ионов калия в цитозоле. В норме существует 1000-кратный градиент между экстрацеллюлярным (1—2 ммоль/л) и внутриклеточным (0,1—1,0 мкмоль/л) содержанием ионов кальция. Повышение концентрации ионов кальция происходит из внутриклеточных депо эндоплазматического ретикулума и за счет повышения проницаемости плазматической мембраны гепатоцита. Повышение внутрицитоплазматической концентрации ионов кальция способно активировать кальцийзависимые протеиназы, фосфолипазы и эндонуклеазы. Активность ферментов приводит к деструкции белков ядра, цитозоля, органелл, цитоскелета и индуцирует образование разрывов мембраны, что морфологически проявляется развитием гидропической и вакуольной дистрофии, с последующим некрозом гепатоцитов (Алексеева Т.И., Брызгина Т.М., Павлович С.И., 1991; Серов В.В., 1996). При высокой концентрации ионов кальция нарушаются митохондриальные функции, что также ведет к гибели клеток. Высокоактивные молекулы могут повреждать кальцийзависимую АТФ-азу путем ковалентного связывания или окисления SH-групп белка или за счет перекисного окисления липидов, окружающих фермент. Параллельно внутриклеточная потеря ионов калия также рассматривается как ранний признак повреждения клеток.

Иммунные механизмы гепатотоксичности

Печень отличается высокой способностью к регенерации. Процесс восстановления разрушенных гепатоцитов происходит за счет репаративной регенерации под контролем лимфоцитов, которые являются факторами морфогенеза тканей (Волошин Н.А. и др., 1996) и осуществляют контроль за состоянием генетического гомеостаза организма (Петров Р.В., 1990). Вместе с тем при гепатите одновременно разрушается большое количество гепатоцитов, которые не элиминируются макрофагами и лимфоцитами. Образуется много денатурированных белков, гаптенных и новых белков в результате репликации вирусов при вирусном гепатите с измененными антигенными детерминантами, на которые собственные Т-лимфоциты формируют первичный иммунный ответ. Это приводит к потере иммунологической толерантности к собственным антигенам гепатоцитов и формированию аутоиммунного процесса, который по современным представлениям определяет степень агрессивности развития патологического процесса в печени.

В настоящее время можно выделить несколько основных механизмов повреждения печени посредством иммунных реакций: иммуноаллергическая гепатотоксичность, функционирование киллерных лимфоцитов и клеточных коопераций, образование неоантигенов и аутоантител, действие медиаторов (цитокины, оксид азота), активация системы комплемента.

Электрофильные метаболиты природного, вирусного, токсического лекарственного происхождения, которые обеззараживаются в печени при их избытке

или неэффективной дезинтоксикации, могут, ковалентно связываясь с белками, образовывать гаптены. Окислительное повреждение белков в результате образования или транслокации дисульфидных связей, а также окисления радикалов аминокислотных остатков, ведет к образованию новых антигенных детерминант на клеточной мембране гепатоцитов (Алексеева Т.И., Брызгина Т.М., Павлович С.И., 1991; Подымова С.Д., 1998). Цитотоксические лимфоциты печени достаточно эффективно поддерживают генетический гомеостаз и, согласно концепции, лимфоцит-фактор морфогенеза органов (Волошин Н.А., 1996) через запуск механизма апоптоза, устраняют гепатоциты с признаками деструкции, контролируя процессы регенерации нормальных гепатоцитов, восстановление целостности органа и развития иммунного ответа на измененные гепатоциты. Апоптоз является физиологическим процессом постоянного клеточного обновления гепатоцитов. При апоптозе происходит сморщивание ядра, конденсация хроматина и эндонуклеазная фрагментация ДНК гепатоцитов без признаков развития воспалительной реакции. Многие токсины способны индуцировать апоптоз. Усиление апоптоза обнаруживают в процессе различных повреждений печени, но механизм его регуляции не выяснен. В отличие от некроза, апоптоз развивается в отдельных клетках. В механизмах апоптоза важную роль играет рецепторная система CD95, которая способна экспрессироваться на мембранах многих клеток, включая гепатоциты. Считают, что связывание лиганда APO-1/Fas с CD95 инициирует процесс апоптоза (Фильченков А.А., Стойка Р.С., 1999). Т-лимфоцитарная и естественная киллерная лимфоцитарная цитотоксичность также часто реализуется через инициацию апоптоза. Другим триггером патологического апоптоза является фактор некроза опухолей (ФНО, TNF), так как он является общим медиатором Т-лимфоцитарной и эндотоксиновой цитотоксичности.

При нарушении процесса контроля над морфогенезом в печени на фоне патологии развивается иммунный ответ на образованные гаптены и неоантигены. На модифицированные белки (чужеродные антигены) формируется две иммунологические реакции. Запускается классический процесс образования плазмочитами антител к антигенам — гуморальный иммунный ответ — и формируется клеточный иммунный ответ через лимфоцитоопосредованную цитотоксичность к антигенам, экспрессированным на клеточной мембране гепатоцитов. Формируется аутоиммунный гепатит. В крови выявляются аутоантитела к мембранам гепатоцитов, компонентам гладкой мускулатуры и микросомам. Аутоантитела к субклеточным структурам и белкам сыворотки служат маркерами аутоиммунного процесса. Антитела, направленные против антигенов ядра, цитоплазмы и мембраны гепатоцитов, в невысоких титрах встречаются при самых различных заболеваниях печени. На выявлении аутоантител основывается современная диагностика заболеваний печени и контроль эффективности лечения вирусных гепатитов (Бабак О.Я., Фадеенко Г.Д., Игнатов В.А., 2001; Консенсус, 2002).

Цитотоксичность лимфоцитов занимает одно из центральных мест в патогенезе различных заболева-

ний печени. Т-лимфоциты способны активироваться при взаимодействии с антигенами клеток-мишеней и уничтожать их. При этом выделяются цитотоксические вещества, которые вызывают цитолиз клеток-мишеней.

Образование цитокинов — это важный элемент поддержания гомеостаза организма. Однако если имеется гиперпродукция цитокинов, возможно повреждение печени. Большинство цитокинов образуется в печени при действии различных стимулов. γ -ИФН продуцируется гепатоцитами в процессе вирусной инфекции. ФНО- α синтезируется клетками Купфера при действии целой гаммы гепатотропных повреждающих агентов. Провоспалительные цитокины: ФНО- α , ИЛ-1 и ИЛ-6 — секретируются клетками Купфера при гепатитах. Этот эффект сопряжен с синтезом белков острой фазы и повышением адгезии нейтрофилов в синусоидах. Эти же цитокины лежат в основе действия многих бактериальных токсинов. Считают, что ФНО- α и ИЛ-1 определяют механизмы некроза и нарушения транспортных систем, ИЛ-8 служит потенциальным хемоаттрактантом для нейтрофилов, ИЛ-6 стимулирует синтез белков острой фазы, обуславливает развитие воспаления. γ -ИФН и липополисахариды через индукцию NO-синтазы усиливают продукцию оксида азота, токсичного для внутриклеточных патогенных микроорганизмов (микробактерии, лейшмании) и опухолевых клеток печени.

Система комплемента состоит из каскада белков плазмы крови, многие из которых синтезируются в печени. Активация системы происходит при связывании C₁-компонента с иммунным комплексом. Она сопровождается повышением фагоцитоза опсонизированных микроорганизмов (C3b), активацией клеток Купфера и нейтрофилов и др. Процесс служит для формирования атакующего мембрану комплекса на клеточной поверхности (C5b-C9). Этот механизм реализуется в печени при эндотоксемии, ишемии-реперфузии, действии свободных радикалов кислорода и иммунных реакциях.

Показано, что клетки Купфера играют важную роль в развитии повреждения печени. Можно описать следующую последовательность событий: повышение концентрации поступившего через портальную вену эндотоксина — активация клеток Купфера и освобождение ими хемоаттрактантов, включая интерлейкины, лейкотриен В₄, C₅-компонент компонента — поступление нейтрофилов из циркуляции — активированные нейтрофилы с рецепторами молекул адгезии прилипают к синусоидальным эндотелиальным клеткам — бурно развивается воспалительная реакция (Харкевич Д.А., 2001). Молекулы адгезии способствуют миграции лейкоцитов в паренхиму печени — активированные нейтрофилы продуцируют свободнорадикальные формы кислорода, которые вызывают разнообразные типы повреждения мембран. Макрофаги печени продуцируют токсические медиаторы и вызывают агрегацию тромбоцитов, что ведет к микротромбозам. Развивается локальная гипоксия ткани, появляются лобулярные некротические поражения, которые хорошо диагностируются патоморфологами (Алексеева Т.И., Брызгина Т.М., Павлович С.И., 1991; Серов В.В., 1996; Донцова Л.С., 2000; Пинцани М., 2002).

Цитотоксичность ряда гуморальных факторов обусловлена особенностями строения синусоидальных эндотелиальных клеток. В отличие от других видов эндотелия, синусоидальный эндотелий фенестрирован и не имеет базальной мембраны. При венозно-окклюзионных заболеваниях печени повреждение эндотелиальных клеток является начальным этапом Т-лимфоцитопосредованной иммунной реакции. Сужение малых внутривенных вен с последующим развитием микротромбозов ведет к нарушению оттока крови и развитию ишемии печени с вторичным повреждением гепатоцитов. Некоторые лекарственные препараты и химические компоненты многих растений проявляют селективную токсичность по отношению к синусоидальным клеткам, инициируя развитие вено-окклюзионной патологии печени и аутоиммунных процессов.

Продолжение в следующем номере