

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ  
ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

2014, №3

2011 йилдан чиқа бошлаган

# TOSHKENT TIBBIYOT AKADEMIYASI AXBOROTNOMASI



# ВЕСТНИК

ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ

Тошкент

## ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

А.А. Хожиметов, Н.Н. Ахмадалиев, М.С. Хайитов, Ф.Э. Нурбаев

## ЖИГАР СУРУНКАЛИ КАСАЛЛИКЛАРИДА ГЕПАТОЦИТЛАРИНИНГ ЗАҲАРЛАНИШ КЎРСАТКИЧИНИ БАҲОЛАШ

А.А. Хожиметов, Н.Н. Ахмадалиев, М.С. Хайитов, Ф.Э. Нурбаев

## EVALUATION OF PARAMETERS OF TOXIC DAMAGE OF HEPATOCYTES IN CHRONIC LIVER DISEASES

A.A. Hojimetov, N.N. Ahmadaliev, M.S. Haitov, F.E. Nurbayev

Ташкентская медицинская академия, Бухарский государственный медицинский институт

**Мақсад:** жигар сурункали касалликлари билан оғриган беморлар эндоген заҳарланишда гепатоцитлар турли жойлашуви ферментларини ўрганиш. **Материал ва усуллар:** жигар сурункали касаллиги билан оғриган беморларда гепатоцитлар ферментларининг, ҳамда митохондрия маркер ферментларининг фаоллиги аниқланди. **Наतिжалар:** жигар сурункали диффуз касалликларида кислород фаол шакллари ва эндоген заҳарланиш пайдо бўлиши билан гепатоцитлар митохондриялари мембраналар таркиби бузилиши, ҳамда қонда цистатин С ва катепсин В миқдорининг ошиши ҳисобидан намён бўлган жигардаги макрофаглар кучайиши аниқланди. Катепсин В лизосомал ферменти фаоллигининг ошиши гепатоцитлар ҳалок бўлиши ва апоптоз тезлашуви сабабларидан бири бўлиши мумкин. **Хулоса:** жигар сурункали касаллигида эга беморларда эндоген заҳарланиш ва ПОЛ маҳсулларининг ошиши билан гепатоцитлар цитолитик шикастланиши ва гиперферментемия рўй беради.

**Калит сўзлар:** заҳарли гепатит, апоптоз, гепатоцит, жигар шикастланиши, гиперферментемия.

**Objective:** to study enzymes of different localization of hepatocytes at endogenous intoxication in patients with chronic liver diseases. **Materials and Methods:** in patients with chronic liver diseases were determined enzyme activity of hepatocytes, as well as mitochondrial marker enzymes. **Results:** in patients with chronic diffuse liver diseases on the background of formation of active oxygen forms and endogenous intoxication we observed hyperenzymemia due to disrupting membrane structures of mitochondria of hepatocytes, as well as stimulation of macrophages in the liver, resulting in higher concentrations of cystatin C and cathepsin B in blood. The increase in activity of the lysosomal enzyme cathepsin B may be one of the causes of death of hepatocytes and acceleration of apoptosis. **Conclusions:** in patients with chronic liver diseases on the background of endogenous intoxication and increase of lipid peroxidation products occurs cytolytic damage of hepatocytes and hyperenzymemia.

**Key words:** toxic hepatitis, apoptosis, hepatocyte, liver damage, hyperenzymemia.

Многочисленными исследованиями доказано, что печень испытывает воздействие многочисленных токсических агентов, разных по силе и длительности, что приводит к расстройствам в системе макро- и микроциркуляции. При усиленном процессе катаболизма или нарушении метаболизма развивается обструктивный холестатический синдром. В такой ситуации выделить какой-либо из вариантов клеточной гибели (апоптоз или некроз) в качестве единственного не представляется возможным. Можно говорить лишь о преимущественном характере [1,2,3].

В последнее время установлено, что гепатоциты экспрессируют различные семейства рецепторов (TNF-R1, DR4, DR5), которые представляют собой гомологичные внутриклеточные участки, называемые доменом смерти (DED). Последний активируется после связывания рецептора со специфическим лигандом. Специфическими лигандами для этих рецепторов являются TNF- $\alpha$  Fash и TRAIL. Повреждение гепатоцитов печени, вызванное активацией TNF-R1 рецептора, происходит в результате эндотоксемии и ишемических, реперфузионных поражений. Активирующим агентом при этом является фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). При этом активизируется митохондриальный путь гибели клетки путем активации лизосомальных протеиназ [5,6].

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что эндотоксемия усиливает процессы апоптоза гепатоцитов и способствует гибели клеток. Следует, отметить,

что в патогенезе развития хронического заболевания печени ведущая роль принадлежит сочетанным сдвигам в различных системах организма. В связи с этим особенно актуально изучение влияния эндотоксемии на активность ферментов различной локализации гепатоцитов при хронических заболеваниях печени.

### Цель исследования

Изучение ферментов различной локализации гепатоцитов при эндогенной интоксикации у больных с хроническим заболеванием печени.

### Материал и методы

Обследованы 29 больных с хроническим заболеванием печени с преобладанием цитолитического синдрома. Критериями включения были хронический гепатит в фазе реактивации, возраст старше 16 лет. Критериями исключения служили сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, бронхиальная астма, почечная патология, онкопатология, беременность. Возраст больных варьировал от 20 до 63 лет. Всем больным проводилось комплексное обследование.

В качестве маркерных ферментов цитоплазматической локализации в сыворотке крови определяли активность г-глутамилтрансферазы, щелочной фосфатазы (набор фирмы «Human»), в качестве маркерных ферментов митохондрий – малатдегидрогеназу, глутаматдегидрогеназу (оптический метод Асатиани, 1982).

Активность аконитатгидратазы, ФНО- $\alpha$ , цистатина С и  $\alpha$ -глутатион-S-трансферазу определяли тест-системой

фирмы «БиоХимМак» (Россия), уровень молекул средней массы исследовали по методу Н.И. Габриэляна (1984). Активность антиоксидантной системы оценивалась по уровню малонового диальдегида (Стальная И.Д., 1977), активность лизосомального фермента катепсина В микрометодом А.А. Покровского. В исследованиях использовали иммуноферментный и биохимический анализаторы фирмы «Human».

Статистическую обработку данных осуществляли методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Результаты обработаны пакетом программ Statistica.

### **Результаты и обсуждение**

Цитокиноопосредованное повреждение печени сопровождается выбросом в кровеносное русло обломков мембран гепатоцитов, ферментов и различных полипептидов. В зависимости от размера полипептиды и олигопептиды, молекулы средней массы улавливаются на спектрофотометре при различной длине волны. Иначе их называют продуктами эндогенной интоксикации. У обследованных нами больных с хроническим заболеванием печени имеет место достоверное увеличение количества среднемолекулярных пептидов  $E_{254}$  в 1,7 и  $E_{280}$  в 1,4 раза, что свидетельствует об эндогенной интоксикации и увеличении в плазме крови уровня пептидов различной массы.

Эндотоксемия и цитокиновая атака на гепатоциты печени при внутрипеченочном холестазах вызывает «кислородный взрыв» клетки, который ассоциируется также с нарастанием пула молекул средней массы на фоне дисфункции системы ПОЛ и АОС, сопровождающейся истощением потенциала антиоксидантной системы и значимым нарастанием содержания малонового диальдегида в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). Изменения изучаемых показателей свидетельствуют о высокой чувствительности к повреждающему действию как цитокинов, так и эндотоксинов печени, которые в свою очередь обеспечивают их клиренс.

Наблюдаемый в гепатоцитах патологический процесс сопровождается холестазами, который в общем виде представляет собой нарушение синтеза, секреции и оттока желчи на уровне желчных канальцев на фоне эндотоксемии и усиление процесса апоптоза гепатоцитов, в результате чего происходит гибель клеток желчных капилляров и выход ферментов в плазму крови. В этой ситуации мы наблюдаем достоверный рост активности г-глутамилтрансферазы в среднем в 4 раза ( $p < 0,05$ ). Схожая динамика наблюдается относительно фермента щелочной фосфатазы, активность который в плазме крови у обследованных была в 3 раза больше, чем у здоровых. Причиной этого является близкое расположение в мембране эпителия желчевыводящих протоков изучаемых ферментов, именно поэтому при деструкции мембран их активность в кровотоке повышается одновременно и почти в равной степени.

Известно, что в гибели клеток, в том числе гепатоцитов, важную роль играют окислительный стресс и повышенное образование активных форм кислорода [4,7]. В данной ситуации основным генератором активных форм кислорода являются митохондрии, в которых активные формы кислорода составляют до 1-2% от общего количества молекулярного кислорода. Активные формы кислорода являются одной из причин усиления проницаемости мембран митохондрий. Нарушение структурных

компонентов мембран митохондрий на фоне эндотоксемии и активных форм кислорода приводит к выходу митохондриальных ферментов сыворотки крови, что указывает на нарушения в митохондриальном уровне [2,4].

Как видно из таблицы 1, у больных с хроническим диффузным заболеванием печени (ХДЗП) по сравнению со здоровыми лицами активность глутаматдегидрогеназы возрастает в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ).

Нарушение баланса между чрезмерной продукцией активных форм кислорода и недостаточностью функционирования антиоксидантной системы приводит к интенсификации свободнорадикального окисления. Свободные радикалы образуются также при стимуляции клеток Купфера и секвестрации полиморфноядерных нейтрофилов. Белковая молекула аконитатгидратазы легко разрушается активной формой кислорода вследствие деструкции железосерного кластера в составе данного фермента, что приводит к его инактивации [2,3]. Это позволяет рассматривать динамику аконитатгидратазы в качестве критерия действия свободных радикалов.

Анализ полученных результатов указывает на значительное снижение активности аконитатгидратазы в сыворотке крови обследованных лиц в среднем в 2,4 раза (табл. 2).

Как было отмечено выше, при стимуляции клеток Купфера образуются свободные радикалы, что также приводит к секреции низкомолекулярного белка – цистатина, который будучи эндогенным ингибитором цистеиновых протеаз регулирует активность катепсина В внеклеточного пула.

Отмеченное нами повышение концентрации цистатина С в сыворотке крови больных хроническим гепатитом направлено на ингибирование активности катепсина В или ее связывание.

Обнаруженное нами повышение концентрации цистатина С в сыворотке крови обследованных больных указывает на возможность использования данного показателя в качестве одного из маркеров стимуляции макрофагов при хронической поражении печени.

Исследования, проведенные у больных с хроническим диффузным заболеванием печени (ХДЗП), выявили снижение активности системы протеина С в плазме крови, что, видимо, обусловлено нарушением белоксинтезирующей функции печени. Кроме того, обнаружена положительная корреляция между содержанием в плазме крови протеина С и фибриногена (табл. 1,2).

Таким образом, у больных с хроническим диффузным заболеванием печени на фоне образования активных форм кислорода и эндогенной интоксикации отмечается гиперферментемия за счет нарушения мембранных структур митохондрий гепатоцитов. Наблюдается также стимуляция макрофагов печени, что выражается в увеличении концентрации цистатина С и катепсина В в крови. На фоне нарушения белоксинтезирующей функции печени снижается концентрация протеина С в крови. Повышение активности лизосомального фермента катепсина В может быть одной из причин гибели гепатоцитов и ускорения апоптоза.

### **Выводы**

1. У больных с хроническим заболеванием печени на фоне эндогенной интоксикации и повышения продуктов ПОЛ отмечается цитолитическое повреждение гепатоцитов и состояние гиперферментемии.

2. Одним из маркеров активации макрофагальной си-

Таблица 1

## Биохимические показатели крови у больных с ХДЗП

Показатель	Здоровые лица (контроль), n=14	Больные с ХДЗП, n=29
Среднемолекулярные пептиды E <sub>254</sub> , усл. ед.	0,21±0,01	0,35±0,01*
Среднемолекулярные пептиды E <sub>280</sub> , усл. ед.	0,30±0,01	0,41±0,01*
Глутаматдегидрогеназа, ммоль/ч/л	15,4±0,91	35,1±3,21*
Малоновый диальдегид, ммоль/мл	1,03±0,11	1,74±0,21*
ФНО-α, пг/мл	198,4±12,6	401,6±14,1
Антиоксидантная активность, ммоль/мл	58,4±2,13	32,4±2,61*
α-глутатион-S-трансфераза, нг/л	412,1±11,8	1956,0±19,2*
g-глутамилтрансфераза, МЕ/л	36,3±1,12	91,9±3,41*
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	68,4±5,11	226,4±11,7*

Примечание. \* p<0,05 по сравнению с контролем.

Таблица 2

## Биохимические показатели крови у больных с ХДЗП

Показатель	Здоровые лица (контроль), n=14	Больные с ХДЗП, n=29
Аконитатгидратаза, ед/мл	0,43±0,05	0,18±0,01*
Цистатин С, нг/мл	1037,1±14,2	1754,6±12,1
Протеин С, мг/л	1,14±0,18	0,85±0,07*
Фибриноген, г/л	3,14±0,41	3,01±0,43
Катепсин В, мкмоль/мин/г белка	28,7±2,04	43,8±3,19*

Примечание. То же, что и к табл. 1.

стемы печени являются цистатин С и катепсин В.

3. Состояние эндотоксемии у больных хроническим заболеванием печени сопровождается нарушением синтеза протеина С.

#### Литература

1. Буеверов А.О. Лекарственные поражения печени как причина внутрипеченочного холестаза // Клин. перспективы гастроэнтерол., гепатол. – 2005. – №6. – С. 2-6.

2. Давыдов В.Г., Бойчук С.В. и др. Молекулярные механизмы апоптоза и некроза гепатоцитов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2006. – №5. – С. 11-18.

3. Ефременко Ю.Р., Контаринникова К.Н. Уровень свободных жирных кислот при метаболическом синдроме до и после лечения // Клин. лаб. диагностика. – 2008. – №9. – С. 60-61.

4. Ливанов Г.А., Калмансон М.Л., Сергеев О.В. и др. Коррекция нарушений транспорта кислорода и свободнорадикальных процессов у больных с тяжелыми формами острых отравлений этанолом на фоне хронической алкогольной патологии // Сиб. мед. журн. – 2007. – №2. – С. 23-27.

5. Макарова В.К., Хомерики С.Г. Липиды сыворотки крови как биохимическое проявление алкогольного, вирусного поражения печени // Клин. лаб. диагностика. – 2007. – №5. – С. 17-19.

6. Borgognone M., Roma M.A. Signaling modulation ob bile salt mated necrosis liolatedrat hepatocytes // Toxicol. Set. – 2005. – Vol. 1, №1. – P. 114-125.

7. Andrade R.J., Robles M., Fernández-Castañer A. Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for gastroenterologists // Wld J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13, №3.

– P. 329–340.

### ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

А.А. Хожиметов, Н.Н. Ахмадалиев, М.С. Хайитов, Ф.Э. Нурбаев

**Цель:** изучение ферментов различной локализации гепатоцитов при эндогенной интоксикации у больных с хроническими заболеваниями печени. **Материал и методы:** у больных с хроническими заболеваниями печени определяли активность ферментов гепатоцитов, а также маркерных ферментов митохондрий. **Результаты:** у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени на фоне образования активных форм кислорода и эндогенной интоксикации отмечалась гиперферментемия за счет нарушения мембранных структур митохондрий гепатоцитов, а также стимуляции макрофагов в печени, что выражалось в увеличении концентрации цистатина С и катепсина В в крови. Повышение активности лизосомального фермента катепсина В может быть одной из причин гибели гепатоцитов и ускорения апоптоза. **Выводы:** у больных с хроническим заболеванием печени на фоне эндогенной интоксикации повышается продукция ПО/Происходит цитолитическое повреждение гепатоцитов и гиперферментемия.

**Ключевые слова:** токсический гепатит, апоптоз, гепатоцит, поражение печени, гиперферментемия.

KHAMRAEV A.J., KARIMOV I.M., NAZIROVA M.H. DIAGNOSIS AND TREATMENT FOR ANTERIOR ECSTOPY OF ANUS IN GIRLS.....	92
ХОЖИМЕТОВ А.А., АХМАДАЛИЕВ Н.Н., ХАЙИТОВ М.С., НУРБАЕВ Ф.Э. ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ.....	95
<b>ГИГИЕНА, САНИТАРИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ.....</b>	<b>98</b>
АЗИЗОВА Ф.Л. ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ СЛАБОСЛЫШАЩИХ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ШКОЛЫ-ИНТЕРНАТА.....	98
РАХИМОВ Б.Б. ОЦЕНКА ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ И ПИЩЕВОГО СТАТУСА ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ.....	102
РУСТАМОВА Х.Е., ТУРСУНКУЛОВА М.Э., СТОЖАРОВА Н.К. ФОРМИРОВАНИЕ ЗДОРОВЬЯ И ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ ГРУДНОГО И РАННЕГО ВОЗРАСТА.....	108
САЛОМОВА Ф.И. АНАЛИЗ РАЦИОНАЛЬНОСТИ СОСТАВЛЕНИЯ УЧЕБНОГО РАСПИСАНИЯ.....	111
<b>ПОМОЩЬ ПРАКТИКУЮЩЕМУ ВРАЧУ.....</b>	<b>114</b>
НУРМУХАМЕДОВ А.И., СУННАТОВА И.О., ХАСАНОВА Д.А., ДЖУРАЕВА Г.Т. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГЕНИТАЛЬНОГО И ЭКСТРАГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА.....	114
НУРМУХАМЕДОВ А.И., СУННАТОВА И.О., ХАСАНОВА Д.А. ПОИСК ОПТИМАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ НИЖНЕГО ОТДЕЛА ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ ЖЕНЩИН.....	116
<b>Трибуна молодых.....</b>	<b>119</b>
АТАХОДЖАЕВА Ф.А., АЛИМОВА Х.Р., АШУРОВА У.А., ГАЙБУЛЛАЕВА Ш.Г. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ВО II ТРИМЕСТРЕ.....	119
БОЗОРОВА Ш.М. ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ КОЖИ.....	122
КЕНЖАЕВА А.О. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ НЕОАДЪЮВАНТНОГО ВВЕДЕНИЯ ПАКЛИТАКСЕЛА БОЛЬНЫМ С МЕСТНО- РАСПРОСТРАНЁННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	124
МАХМУДОВ А.Т. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ТЕРАПИИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЙ ЭЯКУЛЯЦИИ.....	127
НАДЖИМИТДИНОВ Я.С., ЭРГАШЕВ З.Б. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ А-БЛОКАТОРА (ГРАСУЛАН) В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРОСТАТЫ.....	131
ТУРСУНОВА Н.И. РОЛЬ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В ОБЩЕЙ ПЯТИЛЕТНЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ II СТАДИИ.....	134
ШИН Е.В., НАСЫРОВА С.З. СКОСЫРЕВА О.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕБАВИНА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ.....	138
ЮСУПОВА Д.Б., МАМАТИСАЕВ А.А. ХИМИОЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНОГЛОТКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАДИОМОДИФИКАТОРА.....	142
<b>ИСТОКИ.....</b>	<b>145</b>
АТАМУРАТОВА Ф.С. МИЛЛИЙ КИЙИМЛАРНИНГ САЛОМАТЛИК БИЛАН БОҒЛИҚЛИГИ ҲАҚИДАГИ БАЪЗИ МУЛОҲАЗАЛАР.....	145
<b>НЕКРОЛОГ</b>	
<b>ХАМРАЕВ Ш.Ш.....</b>	<b>148</b>