

О. С. Хухліна

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК РОЗЛАДІВ СТАНУ ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ І СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ПАТОГЕНЕЗІ ПРОГРЕСУВАННЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

В основі прогресування хронічного стеатогепатиту будь-якої етіології лежить дифузне фіброзоутворення печінки, зумовлене активацією системи сполучної тканини (СТ) внаслідок поліморфноклітинної інфільтрації печінкової тканини імунокомпетентними клітинами під впливом зростання експресії та активації факторів клітинної адгезії, гіперпродукції

прозапальних цитокінів, факторів росту анаболічної дії, ацидозу, гіпоксії тощо [1; 2]. Багатокомпонентній системі анаболізму колагену та вуглеводно-білкових компонентів позаклітинного матриксу (ПКМ) печінки протидіє потужна система матриксних металопротеїназ, яка забезпечує резорбцію утвореної надлишково рубцеподібної СТ [3].

Водночас, істотну роль у розвитку та прогресуванні стеатонекрозу печінки відіграє система нейтрофільних гранулоцитів, факторами агресії яких є респіраторний вибух із генерацією активних форм кисню та нітрогену, інтенсифікація оксидативного та нітрозитивного стресу, а також ліберация протеїназ, активних у відношенні переважно ушкоджених



білкових субстратів [4; 5]. Інтенсивність процесів протеолізу контролюється низкою тканинних і плазмових інгібіторів протеїназ, як-от: α_2 -макроглобулін (α_2 -МГ), α_1 -інгібітор протеїназ (α_1 -ІП), антитромбін III, тканинний інгібітор матричної металопротеїнази-1 (ТІМП-1) тощо [6; 7]. Дисбаланс цієї системи може призвести до переважання процесів катаболізму протеїнів, які виконують структурні (компоненти клітинних мембран) і транспортні функції, що є потужним ушкоджувальним фактором [8].

Аналіз даних літератури свідчить про відсутність дослідження механізмів ймовірного взаємозв'язку між показниками ана- та катаболізму елементів ПКМ у патогенезі прогресування неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП).

Мета дослідження — встановити наявність взаємозв'язку між станом функціонування протеїназо-інгібіторної системи та сполучної тканини у механізмах прогресування неалкогольного стеатозу печінки (НАСП) і стеатогепатиту (НАСГ).

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 150 хворих на НАЖХП віком від 25 до 63 років, серед яких 50 хворих на НАСП (1-ша група), 50 хворих на НАСГ із м'якою активністю (2-га група) та 50 хворих на НАСГ із помірною активністю (3-тя група) цитолітичного синдрому. В усіх хворих НАЖХП перебігала на фоні цукрового діабету (ЦД) типу 2 середньої тяжкості, субкомпенсованого. Діагноз НАСП і НАСГ встановлювали на основі анамнестичних, клінічних, лабораторних (біохімічних, імунологічних) даних, визначення маркерів вірусів гепатиту В, С, результатів ультразвукового та гістологічного дослідження печінки. Хворі на стеатоз і стеатогепатит вірусної й алкогольної етіології в дослідження не включалися.

Зміни метаболізму компонентів позаклітинного матриксу визначали за вмістом у крові оксипроліну — вільного (ВОП) за С. С. Тетянець (1985) і білковозв'язаного (БЗОП) за М. С. Осадчуком (1979); гексозамінів (ГА) за О. Г. Архіповою (1988), серомукоїдів (СМ), сіалових кислот (СК), фукози, не зв'язаної з білком (ФНБ), за допомогою наборів фірми "Simko Ltd" (Львів), церулоплазміну (ЦРП) за методом М. Р. Ревіна (1976). Вміст у крові матричної металопротеїнази-1 (ММП-1) і ТІМП-1 визначали методом імуноферментного аналізу (DRG System). Стан протеолітичної активності плазми крові вивчали за сумарною активністю протеїназ сироватки крові — за М. Кунітцом (1975), інтенсивністю лізису низькомолекулярних білків (азоальбуміну), високомолекулярних білків (азоказеїну) та колагену (лізис азоколу) — за допомогою реактивів фірми "Simko Ltd" (Львів). Стан протеїназо-інгібіторної системи вивчали за вмістом у сироватці крові α_2 -МГ, вмістом у плазмі крові α_1 -ІП ("Simko Ltd", Львів). Статистичну обробку результатів досліджень проводили із використанням параметричних та непараметричних методів варіаційної статистики.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені нами дослідження вказують на те, що у хворих на НАЖХП встановлена істотна активація фіброзувальних реакцій у печінці: вірогідне збільшення вмісту в крові БЗОП ($P < 0,05$) — маркера анаболізму колагену в усіх групах порівняння, зниження вмісту ВОП — маркера катаболізму колагену — у хворих 1-ї та 2-ї груп ($P < 0,05$); вірогідне зниження вмісту ММП-1 у хворих на НАЖХП ($P < 0,05$), що зумовлено зростанням вмісту в крові ТІМП-1 ($P < 0,05$). Про істотний дисбаланс у системі

функціонування системи СТ свідчить вірогідне зниження співвідношення ММП-1 / ТІМП-1 у хворих на НАЖХП ($P < 0,05$) у напрямку від НАСП до НАСГ помірної активності ($P < 0,05$). Зменшення інтенсивності колагенолізу в цього контингенту хворих сприяло розвитку дифузного фіброзування печінки.

Вірогідне зростання вмісту ГА та СК і зниження вмісту СМ у крові хворих на НАЖХП ($P < 0,05$) призводило до «цементування» колагенових фібрил у ПКМ і зниження можливості їх резорбції. Зростання вмісту в крові ФНБ ($P < 0,05$) свідчить про індукцію процесів катаболізму фукоглікопротеїнів ПКМ і є одним із маркерів деградації нормального ПКМ. Факторами, що сприяли прогресуванню фіброзу печінки при НАЖХП за умов ЦД типу 2, серед уже доведених (активація пероксидного окиснення ліпідів, окиснювальної модифікації білків, процесів апоптозу гепатоцитів, ендотоксикоз, гіперпродукція цитокинів TNF- α , IL-1 β та факторів росту TGF- β 1, IGF-1, гіперкоагуляція крові, розлади артеріальної перфузії печінки) стали розлади функціонування протеїназо-інгібіторної системи ($P < 0,05$). Так, у всіх групах хворих на НАЖХП було встановлено підвищення сумарної активності протеїназ ($P < 0,05$), інтенсивності лізису високо- та низькомолекулярних білків ($P < 0,05$) (таблиця). Водночас при НАСГ було відзначено більш істотне підвищення інтенсивності необмеженого протеолізу, ніж при НАСП ($P < 0,05$), яке зростало зі збільшенням ступеня активності цитолізу. Привертало увагу різноспрямовані зміни КЛА плазми крові: у хворих 3-ї групи лізис азоколу зростав відносно контролю ($P < 0,05$), тимчасом як у хворих 1-ї та 2-ї груп — зменшувався ($P < 0,05$) (див. таблицю). Встановлені зміни супроводжувалися віро-



Показники протеїназо-інгібіторної системи крові у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки, М±m

Показники	ПЗО, n=30	НАСП (група 1), n=40	НАСГ м. а. (група 2), n=40	НАСГ п. а. (група 3), n=40
Лізис АА, Е440/(мл·год)	2,410±0,018	3,260±0,112*	3,720±0,107*/**	3,970±0,095*/**/**
Лізис АК, Е440/(мл·год)	2,160±0,012	3,290±0,123*	3,480±0,073*/**	3,860±0,137*/**
Лізис азоколу, Е440/(мл·год)	0,840±0,016	0,560±0,003*	0,690±0,004*/**	0,980±0,005 */**/**
Протеїнази, мкг/мл	0,420±0,003	0,590±0,005*	0,710±0,004*/**	0,850±0,007*/**/**
α ₂ -МГ, ммоль/л	2,310±0,140	3,920±0,100*	5,010±0,123*/**	6,670±0,107*/**/**
α ₁ -ІП, мкмоль/л	38,550±2,230	127,120±3,561*	152,73±2,83*/**	168,520±4,141*/**/**

Примітка. Різниця вірогідна: * — порівняно з показником у практично здорових осіб (P<0,05); ** — порівняно з показником у хворих на НАСП (P<0,05); *** — порівняно з показником у хворих на НАСГ м. а. (P<0,05).

гідним зниженням вмісту у крові ММП-1 (колагенази) у хворих на НАЖХП в усіх групах спостереження (P<0,05) у порівнянні з показником у контролі. Проведений бінарний кореляційно-регресійний аналіз вказує на наявність сильного прямого кореляційного зв'язку між вмістом у крові ММП-1 і КЛА (r=0,87; P<0,05), а також ВОП і КЛА (r=0,81; P<0,05), що свідчить про тісну взаємозалежність цих процесів.

Зазначені зміни, ймовірно, виникли внаслідок істотного дисбалансу у системі тканинних і плазмових інгібіторів протеїназ. Зокрема, нами було встановлено істотне зростання вмісту в крові α₂-МГ й α₁-ІП у хворих на НАЖХП (P<0,05) порівняно з показником у контролі зі збільшенням активності цитолізу (див. таблицю). Незбалансоване зростання інтенсивності протеолізу, навіть за умов компенсаторного підвищення активності їх інгібіторів у хворих на НАЖХП, призводить до прогресуючої деструкції клітинних мембран гепатоцитів, прискорення їх апоптозу та розвитку некрозів, агресивної деградації ключових компонентів ПКМ печінкової тканини [4; 9]. Вищезазначені фактори є активними індукторами запалення (із формуванням стеатонекрозу) і процесів фіброзогенезу, тобто патологічної репарації та регенерації печінкової тканини з гру-

бим порушенням її архітектоніки й розвитком цирозу печінки, що визначає прогноз щодо життя пацієнтів. Зростання КЛА у хворих на НАСГ помірної активності дозволило збалансувати процеси ана- та катаболізму колагену у даного контингенту хворих. Індукція активними формами кисню процесів генерації інгібіторів протеолізу при НАСП та НАСГ м'якої активності призвели до меншого за інтенсивністю підсилення протеолітичного ушкодження клітин і, водночас, до істотного зниження КЛА та вмісту ММП-1 — ключового ферменту деградації колагену, наслідком чого стало дифузне фіброзування печінки у відповідь на менше за інтенсивністю ушкодження її паренхіми. Підсилення необмеженого протеолізу при НАЖХП можна розглядати як компенсаторну реакцію на нагромадження у системному кровообігу оксидативно модифікованих білків. Цей факт підтверджується наявністю позитивного кореляційного зв'язку між вмістом карбонільних похідних у крові хворих на НАЖХП та ІЛАА, ІЛАК (P<0,05).

Висновки

У хворих на жирову хворобу печінки встановлені істотні зміни метаболізму компонентів позаклітинного матриксу, які передбачають вірогідне

зростання інтенсивності синтезу колагену, глікопротеїнів, гіперпродукцію молекул клітинної адгезії та гострофазових білків, підсилення катаболізму фукоглікопротеїнів на фоні вірогідного зниження вмісту в крові серомукоїдів із протиоксидантними властивостями.

Особливостями порушень рівноваги між протеолітичною активністю крові та вмістом інгібіторів протеолізу у хворих на неалкогольний стеатогепатит помірної активності є збільшення інтенсивності лізису низько- та високомолекулярних білків, колагенолітичної активності крові на фоні істотного компенсаторного зростання активності тканинних і плазмових інгібіторів протеїназ. При неалкогольному стеатогепатиті м'якої активності та стеатозі печінки, що розвинулися на фоні цукрового діабету типу 2, встановлено менш інтенсивне зростання протеолітичної активності крові та гальмування процесів колагенолізу внаслідок зниження активності матриксної металопротеїнази-1, зростання потужності гальмівного впливу тканинних і плазмових інгібіторів протеолізу та колагенолізу. Встановлена бінарна і сумарна кореляційно-регресійна взаємозалежність між показниками стану сполучної тканини та протеїназо-інгібіторної систем вказує на взаємозумовленість зазначених змін та



їх роль у патогенезі прогресування неалкогольної жирової хвороби печінки.

Перспективою продовження даного дослідження є вивчення обміну компонентів сполучної тканини у взаємозв'язку зі станом факторів коагуляційного гемостазу у хворих на неалкогольний стеатогепатит на фоні синдрому інсулінорезистентності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Северов М. В., Минакова Е. Г., Макаров А. В. Фиброз печени — новая страница в клинической гепатологии // *Клин. фармакол. и терапия.* — 2003. — Т. 12, № 1. — С. 27-31.
2. *Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени* / Ч. С. Павлов, Ю. О. Шульпекова, В. Б. Золотаревский, В. Т. Ивашкин // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* — 2005. — Т. 15, № 2. — С. 13-20.
3. *Regulation of matrix metalloproteinase expression by extracellular matrix components in cultured hepatic stellate cells* / D.-R. Wang, M. Sato, T. Sato et al. // *Compar. Hepatol.* — 2004. — Vol. 3, N 1. — P. S20.
4. Бабак О. Я., Талалай І. В. Протеїназо-інгібіторна система та її вплив на окремі фактори неспецифічного і специфічного імунного захисту організму // *Бук. мед. вісник.* — 1999. — Т. 3, № 4. — С. 214-218.
5. Федів О. І. Стан протеїназо-інгібіторної системи крові при виразковій хворобі шлунка і дванадцятипалої кишки // *Бук. мед. вісник.* — 2002. — Т. 6, № 2-3. — С. 111-115.
6. *Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 inhibits apoptosis of rat and human hepatic stellate cells in vitro* / F. R. Murphy, R. Issa, C. Benyon et al. // *Scientific World J.* — 2001. — Vol. 1, N 1, Suppl. 3. — P. 119.
7. Price G. C., Thompson S. A., Kam P. C. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor // *Anaesthesia.* — 2004. — Vol. 59, N 5. — P. 483-492.
8. Ruf W. Protease-activated receptor signaling in the regulation of inflammation // *Crit. Care Med.* — 2004. — Vol. 32, N 5. — P. S287-292.