

## **ПИРУВАТКИНАЗА КАК МАРКЕР АКТИВНОСТИ РЕПАРАЦИИ ПЕЧЕНИ**

*Скуратов А.Г., Лызигов А.Н., Призенцов А.А., Осипов Б.Б.,  
Дорошко Е.Ю.*

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»,  
г. Гомель, Беларусь*

**Введение.** При повреждении ткани или органа активизируются процессы репаративной регенерации, что в конечном итоге может приводить к замещению поврежденной паренхимы фиброзной тканью и развитию патологических состояний, сопровождающихся снижением функциональной активности органа. К примеру, на фоне алкогольного или вирусного поражения печени наступает прогрессирование диффузных заболеваний печени с развитием цирроза печени и его осложнений.

Исследование механизмов репаративной регенерации и выявление новых маркеров ее активности является предметом научных исследований в последнее время. Также разрабатываются новые средства воздействия на репаративные процессы в печени при хронических диффузных заболеваниях и травмах. Однако избыточная регенерация и патологическая реорганизация тканевых элементов могут явиться причиной онкогенеза, что необходимо учитывать при разработке новых методик стимулирования репаративных процессов, в том числе с использованием клеточных технологий.

Активное участие в гликолизе и энергетическом метаболизме принимает фермент пируваткиназа (ПК), уровень которого меняется в зависимости от функциональной активности печени. Таким образом, этот фермент может быть использован в качестве маркера активности процессов регенерации в печени при острых и хронических заболеваниях, а также травмах. Существует несколько изоформ ПК: R, L, M1, M2, при этом изоформы ПК R и L, а также ПК M1 и M2 имеют схожесть по свойствам и составу (Muirhead H., 1990). Изоформа ПК L преимущественно синтезируется в печени, а также почках, поджелудочной железе, тонкой кишке (Noguchi T., 1991), а изоформа ПК R обнаружена в эритроцитах. Экспрессия гена PKLR отвечает за синтез ПК L и R. ПК изоформы M1 характерна преимущественно для тканей с высокой активностью гликолиза (миокард, скелетные мышцы, головной мозг). Уровень изоформ M1 и M2 регулируются экспрессией гена PKM2. Выявлено, что уровень ПК M2 повышается как в активно регенерирующих тканях, так и в низкодифференцированных клетках при онкологии (Zhang Z., 2019).

Однако остается недостаточно исследованной роль ПК и ее изоформ в репаративной регенерации печени при токсическом и механическом повреждении.

**Цель.** Оценить активность изоформ пируваткиназы в эксперименте в ходе регенерации тканей при моделировании токсического и механического повреждения печени.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовались белые крысы линии Wistar (возрастом 10 недель и массой 200–250 г). Моделирование токсического поражения печени проводили внутрибрюшинным введением 50% раствора тетрахлорметана (ТХМ) на оливковом масле в расчете 1 мл на кг веса 2 раза/нед. в течение 10 недель. Вывод из эксперимента передозировкой галотана. В эксперименте данной серии было 20 животных, из которых крысы основной группы (N=10) получали ТХМ внутрибрюшинно; животные контрольной группы (N=10) получали натрий-фосфатный буфер (PBS) внутрибрюшинно из расчета 1 мл на кг веса животного на протяжении 10 недель.

Механическую травму печени моделировали путем резекции в объеме 60–70% органа под общим наркозом. Контрольными точками, на которых животных выводили из эксперимента, были: 3-и, 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки после операции. В этой части эксперимента было 25 животных. На каждой контрольной точке выводили из эксперимента по 5 животных.

Уровень ПК определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). По причине своих особенностей метод ИФА позволяет определять суммарную концентрацию изоформ ПК, кодируемых одним геном, а не каждый изофермент по-отдельности. Поэтому был исследован уровень изоформ ПК L + ПК R (ПК L/R) и ПК M1 + ПК M2 (ПК M). Материалом для исследования послужили сыворотка крови и биоптаты печени.

Статистическую обработку данных проводили при помощи программного пакета «Statistica 10 (StatSoft)».

**Результаты и обсуждение.** При развитии хронического токсического гепатита на фоне поражения печени ТХМ концентрация ПК R/L составила 28,8 [25,4; 33,9] нг/мл, в контрольной группе – 26,5 [18,4; 35,4] нг/мл. Разница значений статистически незначима (Mann-Whitney U Test:  $Z=0,45$ ;  $p=0,65$ ). Следовательно, при хроническом токсическом гепатите на фоне воздействия ТХМ статистически значимого изменения уровня ПК R/L не выявлено, что может свидетельствовать о незначимом изменении интенсивности последней стадии гликолиза при участии ПК R/L.

На фоне хронического токсического поражения печени концентрация ПК M составил 60,5 [47,3; 82,3] МЕ/мл, в контрольной группе – 46,6 [44,5; 52,4] МЕ/мл. Различия значений статистически значимы (Mann-Whitney U Test:  $Z=2,143$ ;  $p=0,032$ ). Данный факт может свидетельствовать об усилении пролиферации клеток и регенерации печени при токсическом воздействии на печень.

При сравнительном анализе уровня изоформ ПК R/L и M в сыворотке крови и биоптатах печени выявлено, что значение концентрации ПК R/L в печени в 32,5 раза выше, а для ПК M – в 26,4 раза выше, чем в сыворотке крови, что соответствует литературным данным (Muirhead H., 1990). Данный

коэффициент был одинаков в основной и в контрольной группах животных. Выявлена корреляция между тканевым и сывороточным уровнем ПК, коэффициент Спирмена R составил 0,57 ( $p=0,002$ ). Следовательно, в исследованиях можно использовать сывороточные концентрации изоформ ПК.

Анализ полученных данных о концентрации изоформ ПК после резекции печени показал, что имел место градиентный умеренный рост уровня ПК R/L с 3-х суток (31,53 нг/мл) по 28-е сутки (40,17 нг/мл), что свидетельствует об активации гликолиза при репаративной регенерации печени в ответ на хирургическое вмешательство.

В свою очередь концентрация ПК М отличалась более сложной динамикой. Так, начиная 3-х суток после выполнения резекции печени наблюдался резкий рост концентрации ПК М (58,39 МЕ/мл) по отношению к исходному уровню (36,17, МЕ/мл), достигая максимального значения к 7-м суткам (79,82 МЕ/мл), и в дальнейшем постепенным снижением до 44,61 МЕ/мл к 28-м суткам. Такая динамика концентрации ПК М соответствует описанным «пикам» активности пролиферации гепатоцитов после резекции печени (Michalopoulos GK., 2010).

**Выводы.** Проведенные исследования продемонстрировали, что вследствие высокой степени соответствия сывороточных и тканевых концентраций изоформ ПК, с целью повышения неинвазивности диагностики и доступности материала возможно исследовать концентрацию изоформ ПК в крови.

При токсическом поражении печени концентрация изоформы ПК М статистически значимо увеличивается, что свидетельствует об активации процессов репаративной регенерации печени. Реакция печени после резекции характеризовалась активацией гликолиза и репаративной регенерации, о чем свидетельствует увеличении содержания ПК R/L в крови и типичной динамикой уровня ПК М, соответствующей «пикам» пролиферации гепатоцитов после частичной гепатэктомии.

Таким образом, концентрации изоформ ПК в сыворотке крови могут быть использованы в качестве маркера активности процессов репаративной регенерации в печени, что может быть использовано для оценки репаративного потенциала печени при прогрессирующих диффузных заболеваниях печени, токсическом или механическом повреждении.