

УДК 577.151.64:[612.35+616.36-002+616.36-003.93]

**УРОВЕНЬ ИЗОФОРМ ПИРУВАТКИНАЗЫ  
КАК ПОКАЗАТЕЛЬ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ**

**Скуратов А. Г., Лызигов А. Н., Шафорост А. С.,  
Зяцьков А. А., Призенцов А. А.**

**Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
г. Гомель, Республика Беларусь**

***Введение***

Повреждение органа или ткани запускает процессы репаративной регенерации в организме. При восстановлении или замещения дефекта в ряде случаев на месте поврежденной ткани развивается фиброз, что приводит к развитию патологического процесса в органе со стойким снижением функции. В частности, прогрессирует диффузное поражение печени на фоне алкогольной интоксикации или вирусной нагрузки.

Предметом активных научных исследований в настоящее время стало изучение механизмов репаративной регенерации и обнаружение новых маркеров, а также средств воздействия на репаративные процессы в печени при хронических диффузных поражениях, а также в результате травмы. Вместе с тем, патологическая реорганизация тканевых элементов в процессе регенерации может явиться причиной онкогенеза, что также необходимо учитывать при разработке технологий стимулирования репаративных процессов.

Одним из маркеров регенерации печени в ответ на механическое или токсическое повреждение может стать фермент пируваткиназа (ПК), который участвует в гликолизе и энергетическом метаболизме организма. Были выделены четыре изоформы ПК: R, L, M1, M2, из которых изоформы ПК R и L, а также ПК M1 и M2 имеет сродство по своим свойствам и аминокислотному составу [1]. Изоформа ПК L образуется преимущественно в печени, а также почках, тонкой кишке, поджелудочной железе [2]. Изоформа ПК R выявлена в эритроцитах. Синтез ПК L и R регулируется экспрессией гена PKLR. Изоформа ПК M1 преимущественно характерна для дифференцированных тканей с высокой активностью гликолиза (скелетные мышцы, миокард, головной мозг). Уровень изоформ M1 и M2 регулируются экспрессией гена PKM2. Отмечено, что концентрация ПК M2 повышается как в активно регенерирующих тканях, так и в низкодифференцированных клеточных элементах при онкогенезе [3]. Также было показано, что фиброзные изменения в печени на фоне хронического токсического/инфекционного поражения связаны с реорганизацией ПК M2 и активацией звездчатых клеток Ито [4].

В то же время остается недостаточно изученной роль изоформ ПК в ходе репаративной регенерации печени после токсического и травматического поражения.

***Цель***

В эксперименте исследовать активность изоформ пируваткиназы при токсическом и механическом повреждении печени, в процессе регенерации.

***Материал и методы исследования***

Для эксперимента использовали белых крыс линии Wistar (возраст 10 недель, масса 200–250 г). Хроническое токсическое поражение печени моделировали путем внутрибрюшинного введения 50 % раствора тетрахлорметана (ТХМ) в оливковом масле в объеме 1 мл/кг веса животного дважды в неделю на протяжении 10 недель, после чего животных выводили из эксперимента путем передозировки ингаляционного анестетика. В этой серии эксперимента участвовало 20

животных, из которых основная группа (N = 10) получала внутрибрюшинные инъекции гепатотропного яда; контрольная группа животных (N = 10) получала внутрибрюшные инъекции 1х PBS (phosphate buffered saline) в объеме 1 мл/кг веса животного также в течение 10 недель.

Механическое повреждение печени осуществляли путем резекции 2/3 органа под ингаляционным наркозом. Животных выводили из эксперимента на 3-и, 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки после операции. В данной серии эксперимента участвовало 25 животных. По 5 животных выводили из эксперимента соответственно на 3-и, 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки после оперативного вмешательства.

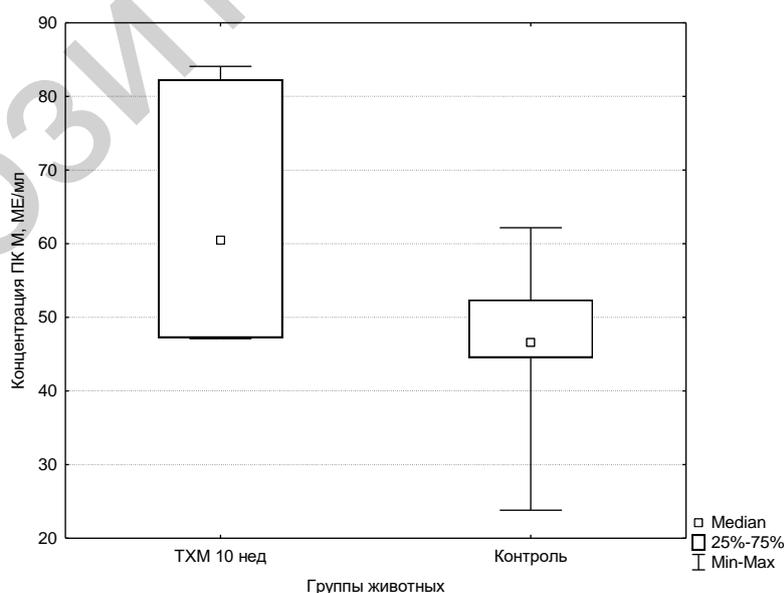
Концентрацию изоформ ПК определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). В виду своей специфики, метод ИФА не позволяет определять концентрацию изоформ пируваткиназы по-отдельности; возможно лишь определение суммарной концентрации изоферментов, кодируемых одним геном. Таким образом, была определена концентрация изоформ ПК L + ПК R (ПК L/R) и ПК M1 + ПК M2 (ПК M). Биологическим материалом служили сыворотка крови и биоптаты печени.

Статистический анализ данных проводили с использованием программного пакета «Statistica» 10.0 (StatSoft).

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

На фоне хронического токсического поражения печени ТХМ уровень ПК R/L составил 28,8 (25,4; 33,9) нг/мл, в контрольной группе — 26,5 (18,4; 35,4) нг/мл. Разница показателей была статистически незначима (Mann — Whitney U Test: Z = 0,45; p = 0,65). Таким образом, на фоне хронического токсического воздействия ТХМ не выявлено статистически значимого изменения уровня ПК R/L, что может свидетельствовать о незначительном влиянии ТХМ на интенсивность протекания финальной фазы гликолиза, индуцируемой ПК R/L.

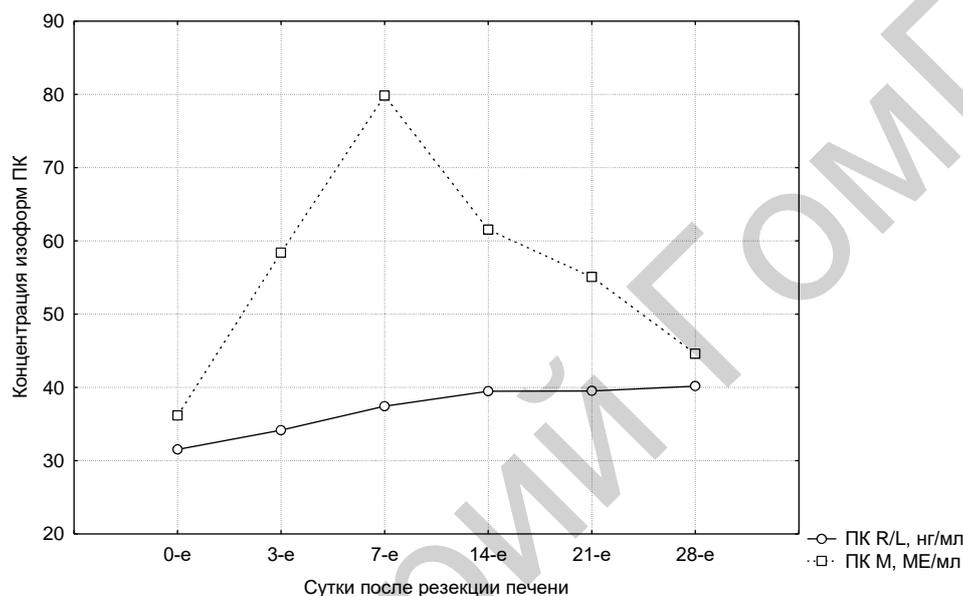
Уровень ПК M на фоне хронического токсического поражения печени ТХМ составил 60,5 (47,3; 82,3) МЕ/мл, в контрольной группе — 46,6 (44,5; 52,4) МЕ/мл (рисунок 1). Разница показателей оказалась статистически значимой (Mann — Whitney U Test: Z = 2,143; p = 0,032). Это может свидетельствовать об активизации процессов регенерации печени в ответ на повреждающее действие гепатотоксина.



**Рисунок 1 — Концентрация изоформы ПК М в крови животных при хроническом токсическом поражении печени**

Анализ концентраций изоформ ПК R/L и M в сыворотке крови и биоптатах печени показал, что концентрация ПК R/L в печени в 32,2–32,8 раза выше, а для ПК M — в 25,3–27,4 раза выше, чем в сыворотке крови, что сопоставимо с литературными данными [1, 3]. А сравнение значений полученного коэффициента не выявило различий между основной и контрольной группой животных. Коэффициент корреляции Спирмена R между тканевым и сывороточным уровнем ПК составил 0,57 ( $p = 0,002$ ). Таким образом, в научных исследованиях можно пользоваться сывороточными концентрациями изоформ ПК.

При исследовании концентрации изоформ ПК после резекции печени получены следующие данные (рисунок 2).



**Рисунок 2 — Концентрация (Ме) изоформ ПК R/L (нг/мл) и M (МЕ/мл) в сыворотке крови крыс после резекции печени**

Анализ полученных данных показал, что имел место постепенный умеренный рост концентрации ПК R/L с 3-х по 28-е сутки с 31,53 до 40,17 нг/мл соответственно, что можно объяснить активизацией гликолиза в процессе репаративной регенерации в ответ на хирургическое вмешательство.

Более сложной динамикой отличалась концентрация ПК M. Так, после выполнения резекции печени, начиная 3-х суток, наблюдалось резкое повышение концентрации ПК M (58,39 МЕ/мл) по сравнению с исходным уровнем (36,17, МЕ/мл), достигая максимума к 7-м суткам (79,82 МЕ/мл) с последующим последовательным снижением до 44,61 МЕ/мл к 28-м суткам. Выявленная динамика уровня ПК M соответствует известным «пикам» пролиферации гепатоцитов в ответ на резекцию печени [5].

### **Заключение**

В результате проведенных исследований выявлено, что сывороточные и тканевые концентрации изоформ ПК имеют достаточно высокую степень соответствия, и для простоты получения материала и повышения неинвазивности диагностики возможно использовать концентрацию изоформ ПК в крови.

Концентрация изоформы ПК M статистически значимо увеличивается при токсическом поражении печени, свидетельствуя об активизации процессов репаративной регенерации печени. Пострезекционная реакция печени характеризовалась активацией гликолиза и репаративной регенерации, что отразилось в увеличении содержания ПК R/L в крови и характерной динамикой концен-

трации ПК М, соответствующей «пикам» пролиферации гепатоцитов в ответ на резекцию.

Таким образом, сывороточные концентрации изоформ ПК могут быть использованы в качестве показателя, характеризующего активности процессов репаративной регенерации в печени, что может быть использовано для оценки репаративного потенциал печени при ее токсическом или механическом повреждении, а также при прогрессирующих диффузных заболеваниях.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Muirhead, H. Isoenzymes of pyruvate kinase / H. Muirhead // Biochem Soc Trans. — 1990. — Vol. 18(2). — P. 193–196.
2. Expression of liver type pyruvate kinase in insulinoma cells: involvement of LF-B1 (HNF1) / T. Noguchi [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. — 1991. — Vol. 27, 181(1). — P. 259–264.
3. PKM2, function and expression and regulation / Z. Zhang [et al.] // Cell Biosci. — 2019. — Vol. 26. — P. 9–52.
4. Pyruvate Kinase M2 Tetramerization Protects against Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrosis / D. Zheng [et al.] // Am J Pathol. — 2020. — Vol. 190(11). — P. 2267–2281.
5. Michalopoulos, G. K. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas / G. K. Michalopoulos // Am J Pathol. — 2010. — Vol. 176(1). — P. 2–13.

УДК 616.716-002.36-07-08

### ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ФЛЕГМОН ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ И ШЕИ

Черняк Л. А.

Учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»  
г. Гродно, Республика Беларусь

#### Введение

Проблема лечения острых гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области остается актуальной. В последнее время многими авторами отмечается увеличение этой категории пациентов. Наиболее распространенными заболеваниями этой группы являются флегмоны челюстно-лицевой области и шеи [1, 2]. Внимание к этой проблеме объясняется не только увеличением числа больных, но и изменением протекания данного заболевания с развитием тяжелых осложнений, таких как медиастинит, сепсис, внутричерепные осложнения [3, 4].

#### Цель

Изучение эффективности применения фотодинамической терапии в лечении пациентов с флегмонами челюстно-лицевой области и шеи.

#### Материал и методы исследования

Для анализа результатов использовали стандартный пакет прикладных статистических программ «Statistica» 10.0. Вначале с помощью критерия Шапиро-Уилка оценивали соответствие распределения каждой анализируемой переменной Гауссовскому (нормальному) распределению. Если распределение переменной не соответствовало нормальному, для ее описания использовали медиану (Me), верхний ( $q_{75}$ ) и нижний ( $q_{25}$ ) квартили. Для сравнения количественных показателей двух независимых выборок применяли непараметрический критерий Манна — Уитни (U).

Проведено лечение 62 пациентов с флегмонами ЧЛО в возрасте от 18 до 70 лет. Большинство пациентов составили лица трудоспособного возраста, что подчеркивает социальную значимость проблемы. Преобладание мужчин характерно для всех возрастных групп (таблица 1).