

АКТУАЛЬНА ПРОБЛЕМА

УДК 616.36-002.12-092:612.115:612.015.3

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ (ПОЛ),  
АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА (АОС) И ГЕМОСТАЗ:  
У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ПРИ ГЕПАТИТАХ (сообщение первое)**

Е.В. Никитин, Н.В. Верба, А.И. Верещагина

Одесский национальный медицинский университет

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, гемостаз, физиология, гепатиты.

**ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ (ПОЛ),  
АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА (АОС) І ГЕМОСТАЗ:  
У ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ І ХВОРИХ НА ГЕПАТИТИ (повідомлення перше)**

Є.В. Нікітін, Н.В. Верба, О.І. Верещагіна

В роботі представлені сучасні погляди на значення системи ПОЛ/АОС та гемостазу у здорових людей та при гепатитах різної етіології.

**Ключові слова:** перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, гемостаз, фізіологія, гепатити.

**PEROXIDATION OF LIPIDS (POL),  
ANTIOXIDATIVE SYSTEM (AOS) AND HEMOSTASIS:  
IN HEALTHY PERSONS AND IN PATIENTS WITH HEPATITES**

E.V. Nikitin, N.V. Verba, A.I. Vereshchagina

The paper presents modern views on the significance of the POL/AOS system and hemostasis in healthy persons and in patients with hepatites of different etiology.

**Key words:** peroxidation of lipids, antioxidative system, hemostasis, physiology, hepatites.

На данном этапе развития науки является общепризнанным факт протекания в нормально метаболизирующих тканях процессов свободнорадикального окисления. Этот процесс носит цепной характер и отличается многокомпонентной системой регуляции. Его можно рассматривать как в рамках физиологического реагирования, так и в качестве одного из этапов развития патологии [1 – 4].

Основной субстрат свободнорадикального окисления липидов – полиненасыщенные жирные кислоты мембран фосфолипидов. Располагаясь в биомембранах в два слоя, они образуют гидрофобную зону. Благодаря специфической структуре возможно выполнение биомембранами своих основных функций: барьерной, функции рецепторов, каналов ионного транспорта, матрицы мембраносвязывающих ферментов [5 – 7]. Свойства таких мембран зависят от входящих в их состав липидов. В гидрофобную зону мембраны включены периферические и интегральные белковые молекулы. Интегральные белки биомембран несут рецепторную, ферментативную функцию, образуют каналы, по которым осуществляется обмен между клеткой и межклеточной жидкостью. Их активность находится в строгой зависимости от физического состояния белков и их состава [6 – 9].

Одной из причин повреждения клеточных мембран, наряду с другими мембраноповреждающими факторами, является чрезмерная активация свободнорадикального окисления (СРО). Сдерживающим СРО на

стандартном физиологическом уровне служит антиоксидантная система.

Протекание реакций ПОЛ обнаружено практически во всех мембранных структурах клеток: мембранах эндоплазматического ретикулула, митохондрий, микросом, клеточной мембране. ПОЛ осуществляется в виде двух процессов: аскорбат-зависимое неферментативное и НАДФ<sup>+</sup>Н-зависимое ферментативное [10, 11]. Скорость неферментативного ПОЛ регулируется в клетке концентрацией ионов двухвалентного железа. Неферментативное ПОЛ протекает во всех видах мембран. Ферментативное ПОЛ проявляется в отдельных клеточных структурах. Различия в действии этих двух систем имеют место, по-видимому, только на ранних этапах инфицирования. В дальнейшем процессы СРО развиваются по определенному единому механизму, в результате которого образуются собственные свободнорадикальному окислению одинаковые продукты.

В живых системах различают два пути использования кислорода. Первый – не предусматривающий включение кислорода в молекулу субстрата и сопряженный с ресинтезом АТФ – это оксидантный путь.

Наряду с оксидантным путем существует и другой, оксигеназный. При использовании кислорода по этому пути восстановление его до воды не происходит, в результате чего могут образоваться супероксидный анион ( $O^{2-}$ ), пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный радикал ( $HO^+$ ) – активные его формы [12, 13].

Супероксидный радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ) может быть генерирован нейтрофилами, в микросомах, хлоропласте, митохондриях. Супероксидный радикал является окислителем, однако липиды прямо он не окисляет, но может инактивировать пероксидазу, каталазу [14], окислять  $\alpha$ -токоферол [15, 16] и тем самым разрушать защитные эффекты этих антиоксидантов [14 – 16].

Перекись водорода в норме как метаболит присутствует в аэробных клетках. Регуляция концентрации осуществляется супероксиддисмутазой, каталазой и глутатионпероксидазой. Генерирование  $H_2O_2$  может осуществляться при полном наличии необходимых в этой реакции субстратов в митохондриях, микросомах, пероксисомах.  $H_2O_2$  могут продуцировать также и цитозольные ферменты, такие как L-а-гидроксильная оксидаза, гликолактооксидаза, альдегидоксидаза,  $\alpha$ -аминооксидаза, глюкозооксидаза и другие. Пероксид водорода может также продуцироваться не ферментатически при аутоокислении флавинов, тиолов и других редуцирующих компонентов путем спонтанной дисмутации  $O_2$ .  $H_2O_2$  не является сильным окислителем и не реагирует непосредственно с полиненасыщенными жирными кислотами. Но, превращаясь в гидроокись (НО), становится мощным окислителем, способным окислять липиды [17].

Гидропероксид легко генерируется в супероксидгенерирующих системах в присутствии ионов железа [18, 19] или солей меди с образованием гидроксильного радикала (НО) [18, 19].

Значение гидроокиси как оксиданта многими ставилось под сомнение. Однако вскоре были представлены прямые доказательства ее участия в развитии процессов ПОЛ [17, 18]. В последующем, участие НО в развитии процессов ПОЛ было постулировано.

ПОЛ может инициироваться ионами и без добавления редуцирующих соединений, а также при взаимодействии с цитохромом Р-450 или с пероксидами (пероксидаза, каталаза, гемоглобин, миоглобин, циклооксигеназа) путем переноса иона водорода на ион металла с повышением его валентности.

Независимо от путей и реакций, в которых образовались активные формы кислорода (и прежде всего гидроксильный радикал), они способны вступать в реакции с ненасыщенными жирнокислотными остатками фосфолипидов мембран, что приводит к их пероксидации. Активация ПОЛ способствует изменению фосфолипидного состава мембран. Резко снижается концентрация легко окисляемых фосфолипидов – фосфатидилсерина, фосфатидилхолина, фосфатидилинозитола [19]. Изменение фосфолипидного состава приводит к изменению активности мембраносвязанных ферментов [20], повышению ее проницаемости для воды, в результате чего возникает «водная коррозия» мембран [6, 21].

Наряду с этим, образующиеся в результате распада гидроперекисей фосфолипидов, диальдегиды взаимодействуют со свободными аминогруппами мембранных белков, образуя межбелковые «сшивки», инактивируя эти белки. Известно, что продукты ПОЛ

способны также окислять сульфогидрильные группы активных центров ферментов, что приводит к инактивации ферментов. Вышеизложенное позволяет заключить, что активация ПОЛ может явиться причиной значительных повреждений клеточных структур не только липидного, но и белкового происхождения, а их устранение может быть осуществлено только путем замены поврежденных молекул вновь синтезированными, что является дополнительной, а иногда и непосильной нагрузкой для клетки [22, 23].

Таким образом, в физиологических концентрациях перекиси липидов не токсичны для организма. Токсичными являются продукты их обмена: альдегиды, кетоны, окисленные жирные кислоты. Особенно токсичны те липиды, которые имеют свободные карбоксильные, перекисные, альдегидные, кетонные, эпоксидные группы. Эти два типа продуктов определяют и два типа биологического действия СРО:

1. Промежуточные продукты (гидроперекиси) в малых концентрациях оказывают физиологическое действие, определяемое обратной инактивацией ферментов, обратимым изменением проницаемости мембран.
2. Конечные продукты СРО оказывают токсическое действие за счет «сшивок» биополимеров, необратимой инактивации ферментов, нарушения митоза, необратимых повреждений мембран и лизиса клеток [2, 24].

Клинически повышение уровня СРО при различных заболеваниях

проявляются слабостью, ослаблением реакций на внешние раздражители, повышением хрупкости капилляров, расстройством функций желудочно-кишечного тракта, аритмией дыхания, преобладанием дистрофических процессов над регенеративными, потерей веса [2, 25].

Ингибирование СРО в биологических системах осуществляется двумя путями (механизмами). Первый – это цепь антиоксидантов глутатион-аскорбат, осуществляющих поток  $H^+$  от фонда НАДФ $^+H$  – НАД $^+H$  к токоферолу, восстанавливающими свободные радикалы. Второй – это группа ферментов, осуществляющая элиминацию гидроперекиси ROOH и супероксидного аниона-радикала (пероксидаза и супероксиддисмутаза). Оба механизма защиты зависят от фонда доноров водорода [26 – 28].

Эффективность антиоксидантной защиты клетки лимитируется тремя факторами: поступлением эндогенных антиоксидантов (токоферол, аскорбат, эрготионен); темпом восстановления НАДФ и НАД; уровнем ферментативного окисления углеводов и жиров, активностью пероксидаз, супероксиддисмутазы, дегидрогеназ и редуктаз. Внеклеточная защита осуществляется токоферолом, полифенолами, аскорбатом, эрготионеном.

Один из первых ферментов, принимающих участие в обезвреживании супероксидных радикалов на начальных этапах СРО, является супероксиддисмутаза (СОД) [29, 30]. От ее активности зависит скорость превращения супероксидного аниона в другие актив-

ные формы кислорода. СОД отводится роль основного внутриклеточного регулятора скорости ПОЛ. Она катализирует реакцию дисмутации  $O_2$ , в итоге которой образуется менее активная форма оксиданта – перекись водорода [31, 32]. Активность СОД регулируется концентрацией  $O_2$  и рН. При чрезмерном накоплении  $O_2$  и даже небольшом снижении рН (до 6,0) происходит обратимая инактивация СОД. Активность фермента также может ингибироваться чрезмерным накоплением  $H_2O_2$ , особенно в сочетании с  $O_2$  [6, 33].

Следующим ферментом, принимающим участие в обезвреживании активных форм кислорода на начальных этапах СРО, является каталаза. Это внутриклеточный железосодержащий фермент, разлагающий  $H_2O_2$ . Каталаза функционирует в тесном содружестве с СОД, защищая ее от инактивации перекисями, и препятствует образованию высокотоксичного гидроксильного радикала. В свою очередь, инактивация каталазы может быть вызвана высокой концентрацией супероксидных радикалов и продуктов их обмена [32].

Среди факторов, реализующих антиоксидантные функции клеток живого организма, существенная роль принадлежит каталитической редокс-системе глутатиона – одной из ведущих внутриклеточных систем торможения перекисного окисления и дезинтоксикации его продуктов [12, 27].

Важнейшими компонентами глутатионовой противоперекисной ферментной системы (ГПФС) являются: глутатионпероксидаза (ГП), глутати-

онредуктаза (ГР), глутатионтрансфераза (ГТ) и восстановленный глутатион (G-SH). Их тесная функциональная взаимосвязь обеспечивает довольно высокую емкость противоперекисной защиты. Эта группа катализаторов, наряду с дезинтоксикацией и детоксикацией перекисей, способна прерывать цепной процесс радикалообразования – его реиницирование и таким образом дополнять эффект действия липидных и водорастворимых антиоксидантов. Следовательно, благодаря своему антиоксидантному и антирадикальному действию, глутатионовая система дублирует и обеспечивает максимальную защиту клеток от избыточного накопления токсических продуктов СРО.

В общих чертах функционирование глутатионовой системы сводится к следующему: ГП катализирует катболические превращения различного рода перекисей с участием восстановленного глутатиона, который при этом обратимо окисляется в глутатион дисульфид (GSSG). Фермент ГР восстанавливает GSSG в GSH. Для этого ГР использует эквиваленты водорода, заключенные в НАДФ<sup>+</sup>H, выполняющиеся в глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции, ключевым ферментом которой является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа [33 – 35].

Таким образом, несмотря на то, что решающая роль в устранении избытка перекисей принадлежит ГП, функционирование этого биокатализатора следует рассматривать сопряженно с ГР, ГТ, GSH и активностью пентозофосфатного пути, являюще-

гося основным источником синтеза НАДФ<sup>+</sup>Н, а, следовательно, и поставщиком ионов водорода.

Краткая характеристика компонентов глутатионовой системы приводится ниже:

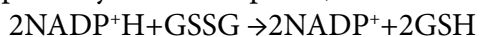
**ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗА.** Впервые была обнаружена в эритроцитах Mills [36], описана O'Brien. Этот селенсодержащий фермент катализирует реакции восстановления различных гидроперекисей и липоперекисей до оксикислот, спиртов или воды. Реакция сопровождается окислением GSH, который является кофактором фермента. Восстанавливая перекиси глутатионпероксидазной реакции, редуцированный глутатион лимитирует скорость ГП-катализа [37].

Активность ГП находится в прямой зависимости от содержания селена, который поступает в организм человека и животных через желудочно-кишечный тракт. Находясь в активном центре фермента, селен непосредственно принимает участие в каталитическом процессе, обратимо превращаясь из восстановленной в окисленную форму.

В последнее время обнаружена молекулярная гетерогенность ГП [38]. Изоферменты отличаются диапазоном субстратной специфичности и некоторыми физико-химическими характеристиками, зависимостью от присутствия селена в их молекуле и обозначаются как ГП1 – селеносодержащий изофермент и ГП2 – селенезависимый. ГП1 обладает широкой субстратной специфичностью к гидроперекисям, органическим пе-

рекиям различной природы. Изофермент ГП2 неактивен в отношении H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и инактивирует преимущественно органические перекиси.

**ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗА** – катализирует восстановление окисленной формы глутатиона в реакции:



ГР содержится во всех клетках крови, печени, сердца, нервной системы и клетках других тканей. Фермент активен в ди- и мономерном состоянии. Димерная структура поддерживается присутствием окисленного глутатиона, а в его отсутствие ГР способна образовывать другие, сохраняющие активность агрегаты. Постсинтетической группой этого фермента является ФАД. В физиологических условиях специфическим коферментом, доставляющим водороды для ГР, является НАДФ<sup>+</sup>Н. Регуляция активности ГР осуществляется рибофлавином, ФАД, никотиновой кислотой.

**ГЛУТАТИОН** – это трипептид, содержится в большем или меньшем количестве во всех тканях.

В биологических системах глутатион существует в двух формах: восстановленной и окисленной, которые могут переходить друг в друга. Благодаря взаимоотношениям этих двух форм, они составляют тиол-дисульфидную редокс-систему, участвующую в поддержании окислительно-восстановительного потенциала клеток и тканей. Известно, что в организме преобладает внутриклеточная, главным образом, восстановленная форма глутатиона. Биосинтез глутатиона осуществляется преимущественно в печени [42, 43].

Глутатион, особенно его восстановленная форма, принимает участие во многих метаболических, структурно-функциональных, энергетических и регуляторных процессах. Он имеет также прямое отношение к осуществлению мембранного транспорта, биокатализа. GSH является специфическим коэнзимом многих ферментов. Глутатион участвует в регуляции биосинтеза белков, окислительном фосфорилировании, биосинтезе простагландинов из ПНЖК и циклических эндоперекисей. Глутатиону свойственна обезвреживающая функция. Весьма важную роль играет глутатион при метаболизме лекарственных веществ, участвуя в их конъюгировании [44].

Исключительно важную роль выполняет GSH в поддержании антиоксидантного гомеостаза тканей и клеток совместно Г-6-ФДГ, ГТ, ГП1, ГП2, ГР. Он увеличивает противоперекисную устойчивость и радиорезистентность в 2,5 раза интенсивнее цистеина. В антиоксидантной защите организма существенная роль принадлежит токоферолам (ТФ) [45, 46]. Стабилизирующее действие ТФ осуществляется путем взаимодействия с перекисными радикалами липидов, «тушения» синглетно-возбужденного молекулярного кислорода, ограничением молекулярной подвижности липидного биослоя мембран. Существенным является тот факт, что токоферолы оказывают стабилизирующий эффект на мембраны лизосом, нормализуют тканевое дыхание в мембранах митохондрий, стабилизируют ферментные

системы транспорта ионов кальция, снижают активность мембранных фосфолипаз [47].

Церулоплазмин (ЦП) – основной антиоксидант плазмы крови. Механизмы антиокислительного действия ЦП заключается в подавлении ПОЛ, инициированного ионами переменной валентности, исключая металлы из реакций инициирования путем их окисления [48, 49].

К природным антиоксидантам могут быть отнесены и такие биологически активные вещества, как биофлавоноиды, билирубин, убихинон [48, 49].

Таким образом, стационарность ПОЛ обеспечивается как непосредственно антиоксидантами, так и опосредованно через текучесть липидного слоя клеток и их структур. ПОЛ/АОС является физиологической константой, которая в норме поддерживается организмом на определенном уровне. Стабильность регуляторной системы сохраняется и при введении экзогенных антиоксидантов. Воздействия, приводящие к изменениям какого-либо звена этой цепи, приводят в действие всю регуляторную систему, в результате чего ПОЛ возвращается на стационарный уровень. Это один из физиологических важных способов модификации фосфолипидного биослоя мембран.

Установлено также участие процессов СРО в механизмах фагоцитоза. При контакте фагоцита с микроорганизмом или объектом, недоступным фагоцитозу (при участии компонентов иммунной системы), происходит активизация НАДФН и НАДН – ок-

сидаз, которые способствуют образованию из молекулярного кислорода супероксидного анион-радикала и гидроперекисей. Активные формы кислорода, выделяемые фагоцитами внутрь фагосомы или во внеклеточную среду, изменяют топографию мембраны микроорганизмов или других объектов, разрушают основные клеточные компоненты, подготавливая их к фагоцитозу. Такому же процессу со стороны макрофагов могут быть подвергнуты и альдегид-измененные липиды, что подтверждает возможность утилизации вторичных продуктов ПОЛ, являющихся по своей сути токсическими веществами [50].

Общепризнана роль состояния СРО/АОС в физиологических и патологических процессах деградации структуры и регуляции функции клеточных мембран и мембранных компонентов клеток, метаболизма ксенобиотиков, синтеза простагландинов, лейкотриенов.

Уровень ПОЛ определяется интенсивностью образования свободных радикалов с одной стороны и достаточностью АОС – с другой. Соотношение интенсивности ПОЛ и АОС определяет антиоксидантный статус клетки, ткани организма в целом. В литературе имеются отдельные работы, посвященные изучению ПОЛ при токсических поражениях печени, и единичные – у больных вирусными гепатитами, посвященные отдельным компонентам антиоксидантной системы, что явно недостаточно для раскрытия отдельных звеньев патогенеза болезни

и совершенствования патогенетической терапии вирусных гепатитов.

Исходя из цели и задач нашего исследования, следует подчеркнуть, что первоначальным толчком в процессе свертывания крови служит повреждение клеток, в результате которого высвобождаются фосфолипиды, активирующие фактор УП, X, а в конечном итоге активируется протромбин [51 – 53]. Образование фибрина из фибриногена запускается поступлением из тканей в кровь тромбопластического фактора, являющегося, по своей природе, липопротеидом. В мембране тромбоцита обнаружен фосфолипидный фактор (3 и 4), активирующий плазменный фактор свертывания крови [54]. Тромбоцитарный фосфолипид или фактор 3 не выделяется в окружающую среду, а проявляет свою активность, будучи связанным с тромбоцитом, его поверхностной структурой [55].

В последние годы установлено значение состояния системы перекисного окисления липидов – антиоксидантная активность организма в регуляции процессов свертывания крови. Усиление процессов ПОЛ способствует склеиванию тромбоцитов, повышает коагулирующие свойства крови, увеличивает содержание патологического фибриногена В, усиливает электрофоретическую подвижность эритроцитов, в результате чего нарастают явления гиперкоагуляции. Механизм этого действия может быть обусловлен аутоокислением фосфолипидов, являющихся составными элементами тромбопластина. При



усилении ПОЛ наступает деструкция клеточных мембран, увеличение их проницаемости, в результате чего в кровь попадают вещества, обладающие тромбопластическими свойствами. Это преимущественно окисленные радикалы жирнокислотных фосфолипидов [56, 57]. Одним из доказательств участия ПОЛ в активации свёртывающей системы крови является получение в эксперименте эффекта гипокоагуляции при назначении антиоксидантов.

Наряду с другими ненасыщенными жирными кислотами, окислению также подвергается арахидоновая кислота, являющаяся одним из основных структурных компонентов клеточных мембран. Высвобождение арахидоновой кислоты из состава фосфолипидов происходит под влиянием активированной особым образом фосфолипазы А<sub>2</sub>. Высвободившись из фосфолипида, она становится субстратом для синтеза простагландинов. Первоначально из арахидоновой кислоты синтезируются простагландины Т<sub>2</sub> и Х<sub>2</sub>. Этот процесс осуществляется во всех органах и тканях под действием эндопероксидпростагландинсинтазы. Дальнейший синтез простагландинов осуществляется под влиянием простагландинконвертазы, в результате чего в эндотелиальных клетках сосудов синтезируется простагландин, в тромбоцитах – тромбоксан А<sub>2</sub>, везикулярных железах – простагландины Е<sub>2</sub> и Ф<sub>2а</sub>. Промежуточные продукты, образующиеся при синтезе простагландинов – эндопероксиды, обладают сильным проагре-

гационным действием на тромбоциты, особенно тромбоксан А<sub>2</sub>.

Усиливают процессы образования простагландинов такие биологически активные вещества, как тромбин, АДФ, коллаген, способствуя активации липолиза фосфолипидов мембран.

На процессах гемостаза существенным образом сказывается также состояние печени – органа, в котором осуществляется синтез большинства прокоагулянтов и антикоагулянтов, утилизация «отработанных» тромбогенных белков. Установлено, что в печени синтезируется частично или полностью фибриноген, фактор V, XI, XIII. Активация плазминогена может быть обусловлена внутренним и внешним механизмами. В реализации этой активации принимают участие фактор XIIIa, каликреин-кининовая система, комплемент C1 и тканевые активаторы. Ингибируется фибринолиз антиактиваторами и антиплазминами. Местом образования этих веществ является преимущественно печень.

Таким образом, печень играет ведущую роль в обеспечении нормальной функции системы гемостаза, что уже давно привлекает к себе внимание как теоретиков, так и клиницистов. Значение изучения факторов свертывания крови, фибринолиза при заболеваниях печени в первую очередь определяется тем, что нарушение функции этого органа должно приводить к уменьшению концентрации в плазме тех факторов, синтез которых осуществляется в гепатоцитах. В связи с этим многими клиницистами принимаются попытки использовать

их исследование для изучения функционирования системы свертывания крови и в оценке тяжести заболевания, протекающих с преимущественным поражением этого органа, особенно при вирусных гепатитах.

Второй причиной, побуждающей изучать систему гемостаза при заболеваниях печени, является относительно частое возникновение у лиц, страдающих болезнями печени, геморрагического и (или) тромбогеморрагического синдромов.

Естественно, что целенаправленная коррекция этих нарушений очень важна, но для этого необходимо правильное понимание сути патофизиологических механизмов, сдвигов в различных звеньях системы гемостаза, иметь возможность точно определять и правильно интерпретировать выявленные сдвиги.

Между тем, именно по этим кардинальным вопросам давно сложились и сохраняются глубокие противоречия, связанные с неоднородностью генеза разных сдвигов, возможностью неоднозначной трактовки выявленных нарушений. Главное противоречие состоит в том, что наметились две принципиальные трактовки патогенеза основных нарушений гемостаза при патологии печени. Согласно одной из них, основную роль в генезе кровоточивости у больных играет нарушение синтеза в гепатоцитах ряда факторов свертывания крови и фибринолиза [58]. Согласно другой – нарушения гемостаза, развивающиеся при болезнях печени, особенно при деструкции ткани этого органа, протекают по ти-

пу тромбогеморрагического синдрома с так называемой «коагулопатией потребления» и вторичной активацией фибринолиза, истощением факторов свертывания [59].

Некоторыми исследователями также получены неоднозначные данные у больных различной формой тяжести вирусного гепатита. У части больных со среднетяжелыми формами наблюдается умеренно и даже резко выраженная гиперкоагуляция, а у некоторых обнаружена «коагулопатия потребления» – третья фаза тромбогеморрагического синдрома с признаками диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Наиболее выраженные нарушения гемостаза обнаруживались при тяжелом течении вирусного гепатита. Так, снижение протромбинового индекса, концентрации фибриногена, фибриностабилизирующего фактора. Нарастание фибринолитической активности крови наблюдали Е.П. Шувалова, А.Г. Рахманова, Г.В. Антонова [60]. При диффузном поражении печени установлено резкое снижение уровня протромбина, проакцелерина, проконвертина на фоне высокой активности процессов фибринолиза и снижения уровня ингибиторов протеолиза, особенно  $\alpha$ -антитрипсина, который, по мнению авторов, может быть использован во врачебной практике как маркер массивной деструкции гепатоцитов.

Причина разноречивости полученных авторами данных становится ясной при анализе сроков забора материала для исследования, так как при

вирусных гепатитах наблюдается фазность изменений гемостаза. Первая фаза – фаза гиперкоагуляции. Длительность ее около 2-х дней. Со 2-го по 14-15-й день наблюдается период равновесия, который в последующем сменяется гипокоагуляцией [61].

Соглашаясь с авторами по поводу очередности фаз нарушения гемостаза, следует все-таки заметить, что конкретно указанные сроки и их длительность могут значительно варьировать в каждом отдельном случае и зависят от скорости нарастания признаков болезни и ее тяжести, определяющей интенсивность первой фазы нарушения гемостаза – гиперкоагуляции.

Одним из основных компонентов, определяющих первую фазу гемостаза, является состояние тромбоцитарного звена. Изучению его роли в гемостазе при вирусных гепатитах и других заболеваниях в последние годы посвящается все большее количество работ, изучающих способность тромбоцитов к агрегации и механизмы агрегации. Участие тромбоцитов в гемостазе определяется их ангиотрофической, адгезивно-агрегационной, секреторной и концентрационно-транспортной функциями.

Исследуя гемостаз у больных вирусными гепатитами, Е.Н. Кузнецова обнаружила в остром периоде болезни гипокоагуляцию, обусловленную уменьшением уровня гипокоагулянтов, нарастанием содержания антикоагулянтов, тромбоцитопенией и снижением функциональной активности тромбоцитов. Степень указанных изменений коррелировала с тяжестью

заболевания и не зависела от этиологического фактора болезни. Снижение числа тромбоцитов, их адгезивной и агрегационной способности установлено также и другими авторами при тяжелом течении вирусного гепатита В, однако, по их данным при легком и среднетяжелом течении болезни показатели тромбоцитарного звена гемостаза соответствовали принятым физиологическим нормам. У больных с хроническими гепатитами также обнаружено значительное снижение числа тромбоцитов, степени их агрегации и дезагрегации.

Исследованиями Е.В. Степановой у части больных со среднетяжелым течением вирусного гепатита и у некоторых с тяжелым течением обнаружено повышение адгезии тромбоцитов. Как следует из вышеизложенного, полученные авторами результаты изменений в тромбоцитарном звене гемостаза разноречивы и обусловлены, на наш взгляд, различными сроками забора материала для исследования и нестандартизированным подходом к понятию «разгар болезни». Если исходить из точки зрения, что «разгар болезни» – это пик ее наивысших клинических проявлений, то этот пик по временному показателю может быть различным при различной степени тяжести болезни, а также может колебаться в довольно широких пределах у каждого отдельно взятого больного. Нарушения же гемостаза подчинены определенным закономерностям, а скорость их развития может быть зависима от массивности и скорости развития патологического процесса.

Получаемый исследователями результат является, на наш взгляд, отображением той фазы нарушения гемостаза, в процессе развития которой было произведено исследование.

В системе свертывания крови существенная роль принадлежит также эритроцитам. Доказано, что эритроциты содержат ряд факторов свертывания крови, аналогичных тромбоцитарным. По-видимому, под влиянием ряда условий мембрана эритроцитов может изменяться, структурно перестраиваться, образуя эритроцитарный тромбопластин. Гемолизированные эритроциты обладают также выраженной тромбопластиновой активностью, обусловленной наличием в них прокоагуляторного фактора со свойствами тромбоцитарного фактора 3 и выраженной антигепариновой активностью. В основе образования тромбоцитарной пробки и адгезивно-агрегационной способности тромбоцитов могут лежать изменения белкового, липидного обмена, электролитного состава плазмы, биоэлектрических свойств самих тромбоцитов, а также других факторов. Главный стимулятор агрегации тромбоцитов – АДФ, источником которого становятся поврежденная сосудистая стенка, клетки эндотелия, эритроциты. Но больше всего АДФ в окружающую среду выделяют сами лабилизованные тромбоциты – «реакция освобождения» [62]. При этом в процесс включаются другие стимуляторы агрегации – адреналин, серотонин, а также тромбин – второй агрегирующий агент, резко усиливающий «ре-

акцию освобождения» АДФ. В стимуляции агрегации принимают участие и другие факторы: фибриноген, ионы  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ . Под влиянием стимуляторов (по-видимому, эндопероксидов) активируется тромбоцитарная фосфолипаза А, высвобождающая из фосфолипидов арахидоновую кислоту. Арахидоновая кислота превращается в лабильные промежуточные продукты синтеза простагландинов, которые являются мощными регуляторами гемостаза.

Наличие столь выраженных изменений гемостаза при вирусных гепатитах, особенно при тяжелом течении болезни явилось предпосылкой для поиска надежных объективных тестов в оценке тяжести болезни. Основное внимание уделялось таким тестам как активность антитромбина III, плазминогена, проактиватора плазминогена и другим компонентам свертывающей системы крови [63]. В поиске тестов прогнозирования острой печеночной энцефалопатии при злокачественных формах вирусных гепатитов в сыворотке крови больных исследовали уровень протромбина, проконвертина, проакцелерина, состояние тромбоцитарного звена гемостаза, антитрипсиновой активности, динамику ретракции кровяного сгустка, иммунный статус. Однако, предложенные тесты не всегда совпадали с морфологическими данными и характеризовали скорее ту или иную стадию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания, документировали уже развивающуюся острую печеночную энцефалопатию.

Таким образом, до настоящего времени не найдены надежные тесты, позволяющие прогнозировать возможность развития острой печеночной энцефалопатии на ранних ее доклинических этапах. Актуальность же поиска такого теста несомненна, так как своевременное распознавание надвигающегося грозного осложнения, а следовательно и своевременное назначение адекватной терапии, могут спасти жизнь больного.

Остается неизученной также проблема взаимосвязи между процессами ПОЛ/АОС и ДВС, имеющими место у больных вирусными гепатитами, что затрудняет выбор адекватной и эффективной патогенетической терапии.

Как вытекает из вышеизложенного, процессы ПОЛ и АОС являются существенными механизмами, обеспечивающими физиологическую жизнедеятельность клеточных структур. Нарушения функционирования хотя бы одного из компонентов этих саморегулирующихся систем приводит к патологическим сдвигам в биомембранах клеточных структур, что приводит к нарушениям биохимических процессов в клетках, потере их жизнедеятельности, деструкции и лизису. В 90-е годы интерес к более глубокому изучению процессов ПОЛ/АОС и гемостаза резко снизился из-за массового появления работ, в которых приводились преимущественно количественные изменения в отдельных звеньях ПОЛ/АОС и не всегда прослеживалась их взаимосвязь с другими системами организма больного и патологическими процессами, проис-

ходящими в нем. Не разрабатывались возможности их коррекции [64].

Изучение возможности влияния на функционирование системы ПОЛ/АОС и гемостаза, на наш взгляд, даст возможность существенно влиять на течение заболеваний, протекающих с деструкцией клеточных структур, что позволит сохранить структуру и функции гепатоцитов, способствует нормализации реологических свойств крови. Нормализация функционирования системы ПОЛ/АОС и гемостаза должно способствовать прекращению развития фиброза печени и улучшению состояния больного. В связи с этим важное лечебное значение имеет применение ряда антиоксидантов в комплексной терапии острых и хронических вирусных гепатитов.

Разработанные нами схемы их применения, в комплексе с интерферонами и рибавирином, а также методика электрокоагулографического исследования для осуществления мониторинга гомеостаза и прогнозирования печеночной энцефалопатии будут представлены в следующем сообщении.

*Продолжение следует.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. Кинетика реакций перекисного окисления липидов и механизмы регуляции этого процесса в клетке // V Всесоюзный биохим. съезд. – М., 1985. – Т. – С. 300.
2. Журавлев А.И. Развитие идей Б.Н. Тарусова о роли цепных процессов в биологии // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. – М., 1982. – С. 3-36.
3. Clavel G.P., Amerit G., Thuillier A. Lipid peroxidation et radicaux libres. Rôle
4. Reed D.G. Regulation of reductive processes by glutathione // Biochem. Pharmacol. – 1986. – Vol. 135, № 1. – P. 7-13.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков И.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
6. Владимиров Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика. – 1987. – Вып. 5. – С. 830-844.
7. Site-specific DNA damage caused by lipid peroxidation products / K. Ueda, S. Kobayashi, G. Morita, T. Komano // Biochim. Biophys. Acta. – 1985. – Vol. 824, № 4. – P. 341-348.
8. Владимиров Ю.А. Действие холестерина на липидный биослой // I Всесоюз. биофиз. съезд: Тез. Лекций и симпоз. докл. – М., 1982. – С. 46.
9. Владимиров Ю.А. Роль нарушений барьерной и матричной функций липидного слоя биологических мембран в патологии: Актовая речь. – М., 1985. – 39 с.
10. Superoxide dismutase activity and reduced content in erythrocytes of uremic patients on chronic dialysis / A. Vanela, E. Geremia, R. Pinturo, P. Pipiolo // Acta Haemat. – 1983. – Vol. 70, № 5. – P. 312-315/
11. Lipid peroxidation in mitochondrial membranes / Yu. A. Vladimirov, V.J. Olenev, T.B. Suslova, L.P. Cheremisina // Advances in lipid Research. – 1980. – Vol. 17. – P. 173-249.
12. Абрамова Ж.И., Оксендгендлер Г.И. Человек и противокислительные вещества. – Л.: Наука, 1985. – 229 с.
13. Roberts J.L., Morrison M.M., Sawyer D.T. Base-induced generation in superoxide ion and hydroxyl radical from hydrogen peroxide // J. Amer. Chem. Soc. – 1978. – Vol. 100, №1. – P. 329-330.
14. Kono J., Fridovich I. superoxide radical inhibits catalase // J. Biol. Chem. – 1982. – Vol. 257, № 10. – P. 5751-5754.
15. Fucuzava K., Gebicki J.M. Oxidation of alpha-tocopherol in micelles and liposomes by the hydroxyl, perhydroxyl, and superoxide free radicals // Arch. Biochem. – 1983. – Vol. 226, № 1. – P. 242-251.
16. Nishicomi M., Yamada H., Yagi K. Oxidation by superoxide of tocopherols dispersed in aqueous media with deoxycholate // Biochim. Biophys. Acta. – 1980. – Vol. 627, № 1. – P. 101-108.
17. Lai C.S., Piette L.H. Spin-trapping studies of hydroxyl radical production involved in lipid peroxidation // Arch. Biochem. – 1978. – Vol. 190, № 1. – P. 65-80.
18. Butler J., Halliwell B. Reaction of iron-EDTA chelates with the superoxide radical // Ach. Biochem. – 1982. – Vol. 218, № 1. – P. 174-178.
19. Jain S.K. The accumulation of malonyl-dialdehyde, a product of fatty acid peroxidation can disturb phospholipid organization in the membrane bilayer of human erythrocyte // J. Biol. Chem. – 1984. – Vol. 259, №6. – P. 3391-3394.
20. Поливода Б.И. Повреждение клеточных мембран гидроперекисью линоленовой кислоты // Биофизика. – 1986. – Вып. 3. – С. 453-456.
21. Молекулярные механизмы повреждения кислородом системы транспорта кальция в саркоплазматическом ретикулуме мышц / Ю.П. Козлов, В.Е. Каган, Ю.В. Архипенко и др. – Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та, 1983. – 135 с.
22. Некрасов Э.В. Методы анализа перекисного окисления липидов в медико-биологических исследованиях / Э.В. Некрасов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2012. – № 46. – С. 98-108.

23. Akerboom T. P., Bilzer M., Sies H. The relationship of biliary glutathione disulfide efflux and intracellular glutathione disulfide content in perfused rat liver // *J. Biol. Chem.* - 1982. - Vol. 25, № 8. - P. 4848-4252.
24. Cordier J.F. Oxidant-antioxidant balance // *Bull.Eur. Physiopathol. Respir.* - 1987. - Vol. 23, № 4. - P. 273-274.
25. Нікітін Є.В. Стан процесів перекисного окислення ліпідів при хронічному гепатиті С у вагітних / Є.В. Нікітін, О.Є. Іванникова // *Одеський медичний журнал.* - 2010. - № 2. - С. 35-37.
26. Karadashek N.S., Awidi A.S., Tarawneh M.S. Two new glucose-6- phosphate dehydrogenase (G6PD) variants associated with hemolytic anemia: G6PD Amman-1 and G6PD Amman-2 // *Amer. J. Haematol.* - 1986. - Vol. 22, № 2. - P. 185-192.
27. Light-enhanced free radical formation and tripanocidal action of gentian violet (crystal violet) / R. docampo, S. Moreno, R. Munir et al. // *Science.* - 1983. - Vol. 220, №4603. - P. 1293-1295.
28. Redeel GSH regeneration and glutathione reductase activity in G6PD variants in Ferrara area / B.B. Andersol, G. Carandina, M. Lucci, et al. // *brit. J. Haematol.* - 1987. - Vol. 67, № 4. - P. 459-466.
29. Halliwell B. Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organisms: the key role of superoxide dismutase // *Cell. Int. Rep.* - 1978. - Vol. 2, № 2. - P. 113-128.
30. Henry J.R., Michelson A.M. Superoxide dismutase. - London, 1977. - P. 283-290.
31. Fridovich J. The biology of oxygen radicals // *Science.* - 1978. - Vol. 201. - P. 875-880.
32. Tyler D. Polarographic assay and intracellular distribution of superoxide dismutase in rat liver // *Biochem. J.* - 1975. - Vol. 147, №3. - P. 493-504.
33. Adediran Suara A. Dependence of reactivity and cooperativity in normal human erythrocyte glucoso-6-phosphate dehydrogenase on ionic strength, pH and temperature // *J. Protein. Chem.* - 1983. - Vol. 2, № 5. - P. 363-370.
34. Watanabe A., Nagaschima H. Glutathione metabolism and glucoso-6-phosphate dehydrogenase activity in experimental liver injury // *Acta med. Okayama.* - 1983. - Vol. 37, № 6. - P. 463-470.
35. Watanabe K., Murakoshi M. Lipid peroxidation and arachidonate cascade in macrophages with special reference to the change of the glutathioneperoxidase, lipid peroxidase scavenger // *Tokai J. exp. clin. Med.* - 1986. - Vol. 11, Suppl. - P. 105-109.
36. Miles L.A., Plow E.F. Plasminogen receptors: Ubiquitous sites for cellular regulation of fibrinolysis // *Fibrinolysis.* - 1988. - Vol. 2, № 2. - P. 61-71.
37. Splittgerber A.G., Tappel A.L. Steady state and presteady state kinetic properties of rat liver seleniumglutathione peroxidase // *J. Biol. Chem.* - 1979. - Vol. 254, № 19. - P. 9807-9813.
38. Bruk R.F., Lawrece R.A. Nonselenium-dependent glutathione peroxidase Hoppe Seyler's L. // *Physiol. Chem.* - 1980. - Vol. 4, № 3. - P. 289-299.
39. Синдром оксидативного стресу у хворих на хронічний вірусний гепатит С низького ступеня активності, сполучений із холестирозом жовчного міхура та його корекція урсолізином і фітозасобом Гепар-ПОС / Т.П. Гарник, В.О. Терьошин, Я.А. Стоцька [та ін.] // *Фітотерапія. Часопис.* - 2013. - № 1. - С. 9-17.
40. Тадеєва А.К. Состояние прооксидантной системы при хроническом вирусном гепатите В+С и циррозе печени / А.К. Тадеєва, Б.И. Отараева, Л.Я. Плахтий // *Вестник новых медицинских технологий.* - 2011. - Т. 18. - № 4. - С. 157-159.
41. Bentler E. Glutathione reductase stimulation normal subjects by riboflavin supplement // *Science.* - 1969. - Vol. 165, № 3893. - P. 613-615.
42. Соцька Я.А. Вплив комбінованого засобу бонджигару на показники перекисного окислення ліпідів у хворих на хронічний вірусний гепатит С низького ступеня активності, поєднаний з хронічним некалькульозним холециститом при проведенні медичної реабілітації / Я.А. Соцька, Т.П. Гарник, І.В. Санжаревська // *Український медичний альманах.* - 2010. - Т. 13, № 1. - С. 144-149.

43. Maker Howard S. Glatathione. Hand. Neurochem. – New York; London. – 1983. – Vol. 3. – P. 607-631.
44. Іванникова О.Є. Стан глутатионової протиперекисної системи й інтерфероногенезу у вагітних, хворих на хронічний гепатит С / О.Є. Іванникова // Одеський медичний журнал. – 2010. - № 3. – С. 43-46.
45. Богданов Н.Г., Лидер В.А. О роли витаминов К и Е в регуляции структуры биомембран // Вестн. АМН СССР. – 1986. - № 12. – С. 31-37.
46. Окисна модифікація білків і ліпідів при алкогольно-ендотоксичному ураженні печінки / А.А. Бабарін, Г.М. Захарова, О.Л. ТОВАЖНЯНЬСЬКА [та ін.] // Експериментальна і клінічна медицина. – 2011. – № 2. – С. 40-43.
47. Солменник А.О. Состояние показателей липидного обмена у больных хроническим гепатитом С / А.О. Соломенник, Н.В. Анцыферова, А.Е. Бондарь // Актуальные проблемы медицины. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 94-97.
48. Bannister J., Allen H., Hill O. Chemical reactivity of oxygen-derived radicals with reference to biological systems // Biochem. Soc. Transact. – 1982. – Vol. 10, № 2. – P. 68-69.
49. Gutteridge John M.C., Richmond R., Halliwell b. Oxygen free radicals and lipid peroxidation: inhibition by the protein ceruloplasmin // FEBS Lett. – 1980. – Vol. 112. – P. 269-272.
50. Shecher J., Fogllman A.M., Hoberland M.E. The metabolism of native and malondialdehyde altered low-density lipoproteins by human monocyte-macrophages // J. Lipid Res. – 1981. – Vol. 22, № 1. – P. 63-71/
51. Зубаиров Д.М. Биохимия свертывания крови. – М.: Медицина, 1978. – 175 с.
52. Bienz D., Schipperling W., Clemetson K.J. Glycoprotein V is none the thrombin activation receptor on human blood platelets // Blood. – 1986. – Vol. 68, № 3. – P. 720-725.
53. Benke O., Trantum-Jensen J. Specialized membrane areas in non-activated and thrombin-activated platelets // Scand. J. Haematol. – 1986. – Vol. 37, № 3. – P. 204-209.
54. Girotti A.W. Mecanisms of lipid peroxidation // J. Free Radic. Biol. Med. – 1985. – Vol. 1, № 2. – P. 87-95.
55. Born G.V.R., Kratzer M.A.A. Source of adenine nucleotides responsible for hemostatic platelet aggregation // J. Physiol. – Vol. 324, March. – P. 52-53.
56. Мищенко В.П. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и свертываемость крови // Актуальные проблемы гемостазиологии. – М., 1981. – С. 153- 157.
57. Кузник Б.И. Цитокины и система гемостаза I. Цитокины и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз / Б.И. Кузник // Тромбоз гемостази реология. – 2012. P. 12-23.
58. Ochler G., Heckers H. Hamostase bei gestorter Leberfunktion, Hamostaseologie. – n1985. – S 47/75. – P. 53-81.
59. Система гемостаза и состояние эндотелия при инфекционной патологии // В.В. Малеев, А.М. Полякова, О.С. Астрина [и др.] // Инфекционные болезни. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 11-15.
60. Минов А.Ф. Нарушения гемостаза при заболеваниях печени / А.Ф. Минов, А.М. Дзядзько, О.О. Руммо // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. - № 2, - С. 82-91.
61. Козулин В.Е. О возможности прогнозирования геморрагического синдрома у больных вирусным гепатитом В // Сов. медицина. 1983. - № 8. – С. 93-95.
62. Mustard J.F., Packham M.A. Factors influencing platelet function: adhesion, release and aggregation // Pharmacol. Rev. – 1970. – Vol. 22. – P. 97-102.
63. Гемостазиологические и биохимические показатели у больных гемофилией с посттрансфузионным гепатитом / С.В. Игнатъев, Е.П. Ивашкина, С.И. Ворожцова [и др.] // Вестник службы крови России. – 2012. - № 3. – С. 45-49.