

УДК 615.9:616.36-085.2: 613.6

## ОБОСНОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕПАТОПАТИЙ У ЛИЦ, РАБОТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Тимашева Г.В., Репина Э.Ф., **Мышкин В.А.**, Каримов Д.О.

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

*На основании полученных экспериментальных и клинических результатов было установлено, что наряду с общепринятыми биохимическими методами урокиназный тест и показатели перекисного окисления липидов дают возможность выявить повреждения печени в ранний доклинический период, что позволяет рекомендовать их для включения в скрининговые программы контроля лиц, контактирующих с гепатотоксикантами.*

**Ключевые слова:** гепатотоксичность, биохимические маркеры, урокиназа, перекисное окисление липидов

**Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.**

## RATIONALE FOR LABORATORY MARKERS FOR EARLY DETECTION OF HEPATOPATHY IN PERSONS WORKING UNDER CHEMICAL LOADING

Timasheva G.V., Repina E.F., **Mushkin V.A.**, Karimov D.O.

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

*Based on the obtained experimental and clinical results, it was found that, along with generally accepted biochemical methods, the urokinase test and lipid peroxidation indices make it possible to detect liver damage in the early preclinical period, which allows to recommend them for inclusion in screening programs to control hepatotoxicant contacts.*

**Key words:** hepatotoxicity, biochemical markers, urokinase, lipid peroxidation

**Authors declare lack of the possible conflicts of interests.**

По данным Всемирной организации здравоохранения 25% заболеваний обусловлено влиянием химического фактора [11,15]. Известно, что химические вещества могут обладать общетоксическим и специфическим (наркотическим, канцерогенным, раздражающим, мутагенным, гепатотоксичным и др.) действиями [1,4,6,8,9]. В клинической картине отравления гепатотропными ядами ведущим синдромом является поражение печени [5,12]. Социальная значимость заболеваний печени химической природы и их последствий год от года растет в мире, что обуславливает задачу выявления ранних, начальных стадий токсического поражения печени с правильной оценкой всех причинных факторов патологического процесса для назначения адекватной своевременной терапии [7].

Большинство гепатотоксикантов вызывают повреждение печени путем прямого взаимодействия со структурами клеток, в основе которого лежит образование химических связей между токсикантом (или продуктами его метаболизма) с макромолекулами, сопровождающееся нарушением их физиологических свойств.

За последние годы вопросам выбора информативных критериев уделяется большое внимание, разрабатываются комплексы диагностически значимых лабораторных биомаркеров для выявления заболеваний [5,6,7,12,14].

Выбор биомаркеров различных нарушений связан с патогенезом заболевания, вызванного воздействием конкретного вредного фактора. Биомаркеры обычно используются как индикаторы состояния здоровья или риска развития заболевания. Измеряемый ответ может быть на функциональном, физиологическом, биохимическом или на клеточном уровнях. В клинической практике биомаркеры используют для подтверждения диагноза, оценки эффективности лечения, прогноза развития заболевания и других целей [6,7,12,14].

Гепатотоксичность вещества, как правило, устанавливается в ходе классических токсикологических экспериментов. Применяемые при этом тесты не отличаются от таковых, используемых при диагностике заболеваний печени у человека.

Целью данной работы являлось на основании многолетних экспериментальных и клинических исследований обоснование информативных лабораторных маркеров для выявления гепатопатий у лиц, работающих в условиях химической нагрузки.

**Материал и методы исследования.** Обобщены проведенные ранее в Уфимском НИИ медицины труда и экологии человека экспериментальные исследования на моделях повреждения печени производственными токсикантами: полихлорированными бифенилами (Совтол-1), тетрахлорметаном, дихлорэтаном, 2,4 – дихлорфенолом, орто-хлорфенолом, трихлорметафосом. В эксперименте определялись биохимические показатели, отражающие метаболизм и функцию печени: активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), уруканиназы (УрН), а также показатели белкового (общий белок, белковые фракции - альбумины, глобулины ( $\alpha$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), пигментного (билирубин), липидного (общий холестерин, триглицериды) обменов, показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) по уровню малонового диальдегида и антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, витамин А и Е, каталаза, мочевая кислота).

Проанализированы результаты изучения состояния здоровья 578 работников по производству гептила в рамках углубленного периодического медицинского осмотра, проведенного сотрудниками Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека. Были использованы аналогичные биохимические тесты. Более половины обследованных (59,4 %) были в возрасте старше 40 лет, в возрасте 30-39 лет – 27,7 %, лица моложе 30 лет – 12,9 %. Стаж в производстве 5-10 лет имели 38,5 %, 11-15 лет – 23,0 %, более 15 лет – 38,5 %.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ статистического анализа «Statistica for Windows».

**Результаты и обсуждение.** На основании полученных экспериментальных результатов и данных литературы установлено, что индикаторами цитолитического синдрома является изменение активности аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), альдолазы, сорбитдегидрогеназы (СДГ). Маркерами холестаза могут служить: щелочная фосфатаза (ЩФ), лейцинаминопептидаза (ЛАП), 5-нуклеотидаза. Белковосинтетическую функцию печени отражает уровень общего белка, белковых фракций-альбуминов, глобулинов ( $\alpha$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). По уровню билирубина и его фракций можно судить об активности ферментативных реакций конъюгации в гепатоцитах – связывание с глюкуроновой кислотой и выделение из организма токсических фракций билирубина.

Количественное определение продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, шиффовых оснований, ТБК - реагирующих продуктов) дает информацию об общем механизме повреждающего действия гепатотоксикантов на клетки печени. Для оценки состояния эндогенных антиоксидантных систем печени целесообразно определять содержание восстановленного и окисленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, супероксидмутазы, каталазы.

Данные литературы свидетельствуют о том, что у 30% рабочих химических предприятий при обследовании с помощью биохимических методов выявляются отклонения от нормы при отсутствии симптомов заболевания печени [6,7]. Одним из высокоспецифичных биохимических маркеров диагностики и прогноза поражений печени является уроганиназа [9]. Активность фермента не определяется в печени при наследственном заболевании – уроганинемии [2]. У практически здоровых людей и здоровых экспериментальных животных активность уроганиназы также не определяется в крови, но ее активность возрастает при малейшей дисфункции печени, в ответ на стресс, гипоксию и другие экстремальные воздействия. Наибольшая активность уроганиназы наблюдается при токсическом или вирусном гепатите, коррелируя при этом со степенью цитолиза и клинической картиной [3].

Абсолютная органоспецифичность, высокая чувствительность, воспроизводимость, простота выполнения, малый расход реактивов, возможность определения активности в пунктатах печени и малых объемах сыворотки крови, стабильность фермента при хранении биоматериала позволяют констатировать, что в настоящее время уроганиназный тест является одним из лучших энзиматических тестов в гепатологии [2, 9].

Результаты проведенных нами исследований представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

**Влияние производственных гепатотоксикантов на активность фермента уроганиназы в сыворотке крови крыс ( $M \pm m$ )**

№ п/п	Гепатоксиканты	Моделируемое повреждение печени	Активность уроганиназы (нмоль/с.л)
1.	Контрольная группа	Здоровые крысы	0,89 ± 0,05
2.	ПХБ – содержащий препарат «совтол-1»	Токсическая гепатопатия	54,9 ± 3,5*
3.	Тетрахлорметан	Гепатит	53,8 ± 3,3*
4.	Дихлорэтан	Гепатит	28,7 ± 5,5*
5.	2,4 - дихлорфенол	Гепатопатия	14,9 ± 2,7*
6.	Орто-хлорфенол	Гепатопатия	19,9 ± 7,8*
7.	Трихлорметафос	Подострая интоксикация	24,5 ± 3,4*

Примечание: \* -  $P < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Они свидетельствуют о том, что активность уроганиназы (УрН), в печени здоровых крыс близка к 1 – (0,89±0,05). В то же время, при повреждении печени производственными токсикантами, активность УрН в сыворотке крови крыс многократно возрастает. Максимальные значения активности УрН выявлены при моделировании патологии печени ПХБ – содержащим препаратом «Совтол-1» и тетрахлорметаном (до 50 – 60 раз), что указывает на тяжелое поражение печени химическими агентами.

Активность УрН в меньшей степени подвержена сезонным колебаниям, в отличие от других маркерных вариантов повреждения печени - аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы [9].

Результаты исследований процессов свободно-радикального окисления, проведенные в экспериментах, позволяют констатировать различный характер нарушений процессов ПОЛ в печени крыс при воздействии производственных токсикантов. Установлено, что острое действие ПХБ – содержащего препарата «Совтол-1», дихлорэтана, 2,4-дихлорфенола и орто-хлорфенола подавляют активность процессов ПОЛ (по показателю содержания в ткани печени триеновых конъюгатов) в первые 24-48 часов после интоксикационного периода. В то же время, ПХБ – индуцированный фиброз печени и субхроническая интоксикация «Совтолом-1», а также подострое действие дихлорэтана, 2,4-дихлорфенола, орто-хлорфенола и трихлорметафоса сопровождаются значительной активацией процессов ПОЛ через 7-14 суток после отмены токсиканта. Оценка результатов подтверждает, что ПОЛ является наиболее общим звеном повреждения печени производственными токсикантами.

При изучении биохимических показателей сыворотки крови у работников производства гептила установлено нарушение баланса между интенсивностью образования свободных радикалов и активностью антиоксидантной системы. У значительной доли работающих выявлено изменение активности процессов ПОЛ, снижение уровня содержания в сыворотке витамина А и Е, уровня молекул средней массы и содержания мочевой кислоты по сравнению с практически здоровыми. Выявлены также изменения активности основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы. Так, активность супероксиддисмутазы была снижена в 2,1- 5,4 раза по сравнению с референтными значениями, активность каталазы была повышена у 52,1% обследованных. Определялись высокие значения среднемoleкулярных пептидов у большинства обследованных. Наиболее часто выявлялись нарушения обмена липидов. Повышение уровня общего холестерина наблюдалось у 42,3%, триглицеридов – у 27,6%, значение индекса атерогенности было повышенным у 70,0% обследованных. Необходимо отметить, что изменения показателей липидного спектра встречались чаще, чем клинические проявления заболеваний. У работников в производстве гептила были установлены и изменения в показателях белкового обмена: снижение уровня альбумина – у 20%, повышение содержания  $\alpha$ -1-глобулинов – у 20%,  $\alpha$ -2-глобулинов - у 46% обследованных лиц. Энзимодиагностика обнаружила повышение активности  $\gamma$  – глутамилтрансферазы (ГГТ) у 18%, ЛДГ – у 22% и АЛТ - у 13% работников производства гептила. С увеличением стажевой нагрузки частота гиперферментемии ГГТ и АЛТ возрастала.

Выявлен дисбаланс в системе «свободно-радикальные процессы - антиоксидантная активность», а именно повышение содержания продуктов ПОЛ у 73,1%, понижение антиоксидантной активности организма - снижение уровня витамина Е – у 60,0% и витамина А – у 39,0%, повышение антиоксидантной активности – у 55,2% обследованных.

### **Заключение.**

Применяемые в клинической практике общепринятые биохимические методы оценки функционального состояния печени позволяют с достаточно высокой степенью надежности устанавливать уровень повреждения гепатоцитов токсикантами. Вместе с тем, апробированные нами в эксперименте и клинической практике уроганиазный тест и показатели ПОЛ дают возможность выявить повреждения печени до клинических проявлений, что позволяет рекомендовать их для включения в скрининговые программы контроля лиц, контактирующих с гепатотоксикантами.

Активность ферментов уроганиаза в сыворотке крови рекомендуется определять при первичном обследовании лиц, контактирующих с потенциальными гепатотоксикантами одновременно с определением щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и трансферазы гамма-глутаминовой кислоты, с целью выявить состояние, увеличивающие риск производственных поражений печени.

Активность процессов перекисного окисления липидов в крови (по количеству триеновых конъюгатов) рекомендуется определять как при первичном, так и при периодическом обследовании лиц, контактирующих с потенциальными гепатотоксикантами (желательно одновременно с определением активности ферментов – маркеров цитолиза и холестаза) с целью выявить повреждения печени, связанные с действием токсикантов.

Определение активности процессов перекисного окисления липидов в биоптатах печени может быть также использовано в качестве диагностического теста при углубленном обследовании лиц, отстраненных от работы, связанной с воздействием потенциальных гепатотоксикантов.

### **Список литературы:**

- 1 Бакиров, А. Б. Токсикология продуктов нефтехимической промышленности. Ч. 2. Ароматические углеводороды: пособие для врачей / А. Б. Бакиров, О. Н. Дубинина, Н. Ю. Хуснутдинова. - Уфа: Мир печати, 2010.
- 2 Буробин, В.А. Определение активности уроганиаза в сыворотке крови и ткани печени. Микрометод / В. А. Буробин, Н. В. Лихачева, Г. Е. Абгафарова //Лабораторное дело.- 1978. - №11. - С. 650-653.
- 3 Изучение биологической активности уроганиновой кислоты / В. А. Буробин, О.В. Пономарева, Т. Г. Николаева и др. // Вопросы мед. химии.- 1985. - №1. - С.102-106.
- 4 Голиков, С. Н. Общие механизмы токсического действия / С. Н. Голиков. - Л.: Медицина, 1986.
- 5 Профессиональная патология: национальное руководство / под ред. Н. Ф. Измерова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.
- 6 Карамова, Л. М. Профессиональный риск для здоровья работников нефтехимических производств / Л. М. Карамова, Л. К. Каримова, Г. Р. Башарова. – Уфа, 2006.
- 7 Майер, К.П. Гепатит и последствия гепатита / К. П. Майер. 2-е изд. - М.: Гэотар-Медиа, 2004.
- 8 Мышкин, В.А. Окислительный стресс и печень при химических воздействиях / Мышкин В. А. , А. Б. Бакиров. - Уфа: Мир печати, 2010.
- 9 Мышкин, В. А. Поражения печени химическими веществами. Функционально-метаболические нарушения, фармакологическая коррекция / В. А. Мышкин, Р. Б. Ибатуллина, А. Б. Бакиров. - Уфа: Гилем, 2007.

- 10 Уроканиназемия в качестве биохимического маркера поражения печени ПХБ - содержащим препаратом «Совтол-1» и эффективность ее коррекции метаболическими средствами / В.А. Мышкин, Э.Ф. Репина, Д.М. Галимов, Г.В. Тимашева, А.Р. Гимадиева. // Актуальные проблемы профилактической медицины, среды обитания и здоровья населения : материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Уфа, 2013. – С. 166-168.
- 11 Онищенко, Г. Г. Химическая безопасность – важнейшая составляющая санитарно-эпидемиологического благополучия населения / Г. Г. Онищенко //Токсикологический вестник. – 2014. - №1. – С.2-6.
- 12 Тимашева, Г.В., Галимова Р.Р. Критерии ранней диагностики нарушений состояния здоровья у работников производства гептила / Г. В. Тимашева //Здравоохранение Российской Федерации. - 2011. - № 5. - С.10.
- 13 Диагностическая значимость определения активности уроканиназы как биохимического маркера гепатотоксичности / Г. В. Тимашева, Э. Ф. Репина, В. А. Мышкин, А. Б. Бакиров, Р. Р. Галимова, А. Ж. Гильманов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2014. - № 9. - С. 122.
- 14 Лабораторные маркеры диагностики ранних метаболических нарушений у работников крупного химического комплекса / Г. В. Тимашева, Г. Г. Бадамшина, А.Б. Бакиров, А. Ж. Гильманов, Р. М. Салыхова, О.В. Валеева // Клиническая лабораторная диагностика. - 2014. - №9(59). - С.129 - 130.
- 15 Хамидуллина, Х. Х. Задачи профилактической токсикологии в обеспечении безопасного регулирования химических веществ // Современные проблемы гигиены и медицины труда : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посв. 60-летию образования ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» / под ред. проф. А.Ю. Поповой, проф. А.Б. Бакирова. – Уфа: Книжный формат, 2015. – С. 515 - 520.

Поступила/Received: 05.10.2018  
Принята в печать/Accepted: 10.10.2018