

## РОЛЬ МЕТАБОЛИТОВ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ В ДИАГНОСТИКЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Лазебник Л. Б., Звенигородская Л. А., Нилова Т. В., Черкашова Е. А.

ГБУЗ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ г. Москвы

### РЕЗЮМЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) в настоящее время признана одним из основных факторов сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, является главным компонентом метаболического синдрома (МС). В патогенезе НАЖБП немаловажную роль играет нарушение микрофлоры толстой кишки и, как следствие, повышение содержания продуктов жизнедеятельности микроорганизмов (эндотоксина и оксида азота), с которыми связаны процессы атерогенеза, дислипидемии и прогрессирование НАЖБП.

Целью исследования было изучение роли оксида азота и эндотоксина в формировании воспаления у больных с НАЖБП. Обследовано 130 больных, из которых у 50 больных диагностирован стеатоз печени и у 80 — неалкогольный стеатогепатит. Получено достоверное увеличение содержания метаболитов оксида азота у больных НАЖБП на стадии стеатогепатита по сравнению с контрольной группой и стеатозом печени. Активность бактериального эндотоксина была повышена, что сопровождалось нитроксидсинтазной индукцией. Оксид азота и эндотоксин являются маркерами воспалительного процесса в печени на ранней стадии перехода от стеатоза печени к стеатогепатиту, и увеличение содержания NO и эндотоксина в сыворотке крови предшествовало повышению печеночных ферментов.

**Ключевые слова:** неалкогольная жировая болезнь печени; стеатоз печени; неалкогольный стеатогепатит; воспаление; оксид азота; эндотоксин.

### SUMMARY

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is now recognized as one of the main factors of complications of cardiovascular disease, and is the main component of the metabolic syndrome (MS). In the pathogenesis of NAFLD plays an important role violation of colon microflora, and as a result, elevate the levels of microorganisms metabolic products (endotoxin and nitrogen oxide), which are associated with processes of atherosclerosis, dyslipidemia and progression of NAFLD. The aim of the study was to investigate the role of nitric oxide and endotoxin in the formation of inflammation in patients with NAFLD.

A total of 130 patients were diagnosed, including 50 patients with hepatic steatosis and 80 patients with nonalcoholic steatohepatitis. Significant increase of nitric oxide was obtained in patients with NAFLD at the stage of steatohepatitis in compare with control group, and in compare with hepatic steatosis. Activity of bacterial endotoxin was increased, which was accompanied by nitric oxide synthase induction. Nitric oxide and endotoxin are the markers of inflammation in liver on the early stages of transition from steatosis to steatohepatitis and increase of NO and endotoxin in blood serum preceded elevation of hepatic enzymes.

**Keywords:** non-alcoholic fatty liver disease, hepatic steatosis, nonalcoholic steatohepatitis, inflammation, nitric oxide, endotoxin.

## ВВЕДЕНИЕ

Исследования последних лет, основанные на современных достижениях клинической медицины, доказали, что НАЖБП играет важную роль в формировании факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Связано это с тем, что синтез холестерина осуществляется главным образом в печени; на уровне гепатоцита реализуется и системное, субклиническое воспаление. С другой стороны, печень является органом мишенью атерогенной дислипидемии, органом-мишенью при атерогенной дислипидемии. Возникают сложности в назначении гиполипидемических препаратов, в частности, статинов, которые сами по себе обладают известным гепатотоксическим эффектом, и увеличение их дозы может привести к развитию лекарственного гепатита на фоне НАЖБП.

В последнее время было доказана патогенетическая связь состояния кишечного биоценоза не только с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), но и с такими заболеваниями, как атеросклероз и артериальная гипертония, мочекаменная болезнь и пиелонефрит, желчнокаменная болезнь и гепатиты, бронхиальная астма и экзема [2; 5; 7; 8; 14; 18; 21–23]. Наиболее важными и изученными функциями кишечной микрофлоры являются обеспечение антиинфекционной защиты, стимуляция иммунных функций макроорганизма, обеспечение всасывания минералов и воды, синтез витаминов группы В и К, регуляция липидного и азотистого обменов, регуляция кишечной моторики [20]. По своей роли в поддержании гомеостаза кишечная микрофлора не уступает любому другому жизненно важному органу. Все это позволяет выделить ее как самостоятельный орган. До настоящего времени уделяется необоснованно мало внимания значению микробной экологии пищеварительного тракта в реализации физиологических функций и патологических нарушений при дислипидемии, развивающейся у больных с НАЖБП. В этой связи формирование и прогрессирование дислипидемии необходимо рассматривать в тесной взаимосвязи с микробиотой пищеварительного тракта.

С 1935 года существует гипотеза о том, что кишечная микрофлора участвует в холестеринном обмене. С тех пор накоплено много доказательств того, что резидентная и транзиторная микрофлора хозяина, синтезируя, трансформируя или разрушая экзогенные и эндогенные стерины, активно участвует в стеринном метаболизме. В 2001 году Карнейро Де Мура предложил теорию о нарушении микробного сообщества в толстой кишке как один из путей реализации нарушений липидного метаболизма [6].

Микроорганизмы, обитающие в кишке, метаболизируют холестерин, поступивший в толстую кишку в копростанол и далее — в копростанон.

Образующиеся в результате брожения ацетат и пропионат, всосавшись в кровь и достигнув

печени, могут влиять на синтез холестерина. В частности, показано, что ацетат стимулирует его синтез, а пропионат — тормозит. Третий путь влияния микрофлоры на обмен липидов в макроорганизме связан со способностью бактерий метаболизировать желчные кислоты, в частности холевую кислоту.

Невосавшаяся в дистальных отделах подвздошной кишки конъюгированная холевая кислота в толстой кишке подвергается деконъюгации микробной холеглицингидролазой и дегидроксилированию при участии 7-альфа-дегидроксилазы. Этот процесс стимулируется при повышении значений рН в кишке. Образовавшаяся деоксихолевая кислота связывается с пищевыми волокнами и выводится из организма. При повышении значений рН деоксихолевая кислота ионизируется и хорошо всасывается в толстой кишке, а при снижении — выводится. Всасывание деоксихолевой кислоты обеспечивает не только пополнение пула желчных кислот в организме, но также является важным фактором, стимулирующим синтез холестерина. Повышение значений рН в толстой кишке, которое может быть связано с различными причинами, приводит к повышению активности ферментов, приводящих к синтезу деоксихолевой кислоты, к повышению ее растворимости и всасывания и, как следствие, повышению в крови уровня желчных кислот, холестерина и триглицеридов. Одной из причин повышения рН может быть недостаток пребиотических компонентов в питании, нарушающих рост нормальной микрофлоры в том числе бифидо- и лактобактерий [8; 10; 15].

Также установлено, что покоящиеся и растущие клетки бифидобактерий в присутствии солей желчных кислот секретируют деконъюгазы, которые превращают таурин- и глицинсодержащие амиды желчных кислот в труднорастворимые осадки, связывающие толстокишечный холестерол и обеспечивающие экскрецию его с каловыми массами, уменьшают выход холестерина из печеночных клеток за счет ингибирования активности ГМГ-КоА-редуктазы, оказывают влияние на количество рецепторов для липопротеидов низкой плотности у форменных элементов крови.

Аналогичные свойства отмечаются у лактобацилл и некоторых других кишечных микроорганизмов [11; 12; 19]. Стоит еще раз подчеркнуть, что трансформация холестерина в экскретируемые формы происходит в присутствии желчных кислот, выход которых имеет свойство уменьшаться при паренхиматозных заболеваниях печени.

Надо отметить, что в патогенезе атерогенной дислипидемии немаловажную роль играют



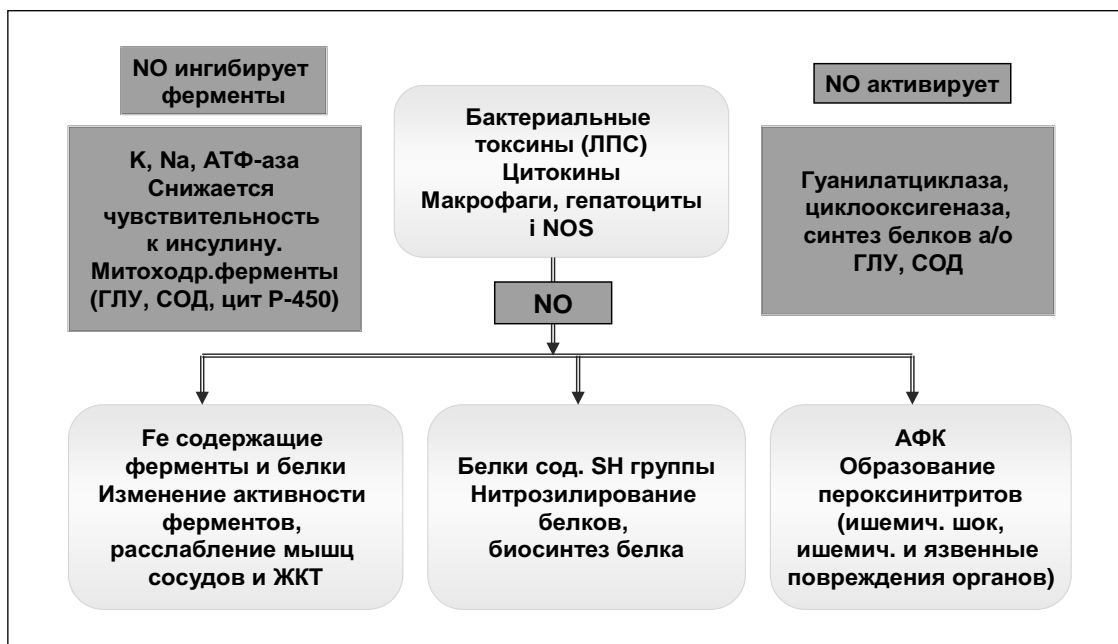


Рис. 1. Оксид азота и воспаление.

продукты метаболизма кишечной микрофлоры, в частности короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), эндотоксин, оксид азота [1; 4; 13; 16]. КЖК — основной продукт микробной ферментации углеводов, жиров и белков. КЖК — монокарбоновые кислоты с длиной цепи до 8 атомов углерода. К ним относятся уксусная, пропионовая, изомасляная, масляная, изовалериановая, валериановая, изокапроновая и капроновая кислоты. Неразветвленные летучие жирные кислоты — уксусная, пропионовая и масляная — образуются при анаэробном брожении углеводов. В присутствии этих кислот тормозится развитие условно патогенных штаммов, которые в большинстве своем обладают протеолитическим типом метаболизма. Подавление протеолитических штаммов сопровождается угнетением гнилостных процессов и подавлением образования аммиака, ароматических аминов, сульфидов, эндогенных канцерогенов [20]. Образование разветвленных КЖК — изомасляной и изовалериановой — происходит при метаболизме белков, из валина и лейцина соответственно.

Благодаря выработке жирных кислот происходит регуляция рН внутрикишечного содержимого. Локально КЖК определяют снижение рН и обеспечивают колонизационную резистентность, а также принимают участие в регуляции кишечной моторики, осуществляют дезинтоксикационную функцию за счет выведения продуктов метаболизма белков [17].

Также доказано их участие в энергообеспечении эпителиальных тканей, в процессах роста и дифференцировки колоноцитов, поставки субстратов глюконеогенеза, поддержании ионного и газового обмена, активации местного и системного иммунитета и многое другое [3].

Выполнение перечисленных и многих других метаболических функций возможно лишь в том случае, если нормальная микрофлора в полной мере обеспечена необходимыми для ее роста и развития нутриентами. Важнейшими энергетическими источниками для нее являются углеводы: ди-, олиго- и полисахариды, не расщепляющиеся в просвете тонкой кишки, которые получили название пребиотики. Для нормальной жизни бактерий толстой кишки нужны также витамины, некоторые из которых они синтезируют сами.

Итак, кишечная микрофлора выполняет многочисленные функции, жизненно необходимые для макроорганизма. Метаболитам кишечной микрофлоры в диагностике НАЖБП придается большое значение. Эндотоксин и оксид азота играют ключевую роль в прогрессировании неалкогольного стеатогепатита.

Оксид азота (NO) в начале изучения связывали с воспалением. При воспалении макрофаги выделяют оксид азота, который может ингибировать важные группы ферментов синтеза АТФ, ферменты цикла Кребса и синтеза ДНК (рис. 1). В организме NO образуется из аргинина с участием синтазы оксида азота [23–27].

Оксид азота, молекула со свойствами радикала, позволяет этому соединению как активировать свободнорадикальные реакции, так и ингибировать их. Оксид азота относится к факторам антимикробной защиты организма. Он уничтожает множество типов патогенных микроорганизмов (вирусы, бактерии, грибы, простейшие) или останавливает их рост. Бактериальные продукты (токсины) индуцируют в макрофагах синтез ФНО, который индуцирует синтазу оксида азота. В макрофагах, нейтрофилах, гепатоцитах синтез оксида азота определяет индуцибельная синтаза

оксида азота. В настоящее время NO-синтазы, специфичные для разных тканей и клеток, достаточно хорошо изучены [23–27]. Из гепатоцитов выделена и описана индуцибельная NO-синтаза [23]. Данная синтаза оксида азота имела уникальные свойства, характерные как для индуцибельных (индуцируется комбинацией факторов: интерлейкин-1, фактор некроза опухолей, интерферон и липополисахарид), так и для конститутивно экспрессируемых NO-синтаз и является основной неспецифической резистентности организма. Оксид азота стимулирует синтез простагландинов за счет активации циклооксигеназ, усиливает антиоксидантную защиту, активируя продукцию глутатиона и супероксиддисмутазы [27]. Особый интерес представляет способность оксида азота экспрессировать синтез ряда важнейших белков и ферментов, белки антиоксидантной защиты, а также влиять на активность многих белков и ферментов — гуанилатциклазу, рибонуклеотидредуктазу, компонентов дыхательной цепи митохондрий и гликолиза, белков типа цитохрома P450 [26; 27]. Нитро- и другие азотсодержащие соединения метаболизируются до нитритов и нитратов, также могут вновь восстанавливаться до NO за счет наличия нитритредуктазной активности у гемсодержащих белков (гемоглобина, миоглобина, цитохромоксидазы, цитохрома P450. Система цитохрома P450 локализована в мембранах эндоплазматического ретикула и выполняет различные функции: монооксигеназную, оксидазную, пероксидазную. Ферментной системой цитохром P450-зависимых монооксигеназ микросом гепатоцита метаболизируются канцерогены, большинство лекарств и эндогенные субстраты, такие как холестерин, стероиды, простагландины, жирные кислоты. Основным типом реакций на цитохроме P450 является микросомальное окисление или гидрокселирование, обеспечивающее выполнение детоксицирующей функции печени. Физиологическое значение лекарственной метаболизирующей ферментной системы состоит в превращении липофильных препаратов в водорастворимые метаболиты, которые легко выводятся через почки. При заболеваниях печени подавляется активность гидроксилазы, то есть процесс цитохром P450-зависимого гидрокселирования. Механизм угнетения цитохрома P450 имеет свободнорадикальную природу.

Эндотелий активно участвует в реализации защиты организма, в формировании синдрома воспалительного ответа. Факторами, которые воздействуют на эндотелий, являются оксид азота, простагландин, брадикинин, С-натрийуретический пептид. Оксид азота также регулирует пролиферацию гладкомышечных клеток и препятствует формированию тромбов на эндотелии, а также ингибирует связывание лейкоцитов и тромбоцитов с мембраной эндотелия и ингибирует атероматоз аорты. При снижении синтеза оксида азота

клетками эндотелия преобладают спастическое состояние микрососудов, активация агрегации тромбоцитов на эндотелии. Увеличение содержания в крови эндогенных патогенов, таких как модифицированные ЛПНП, повышает АД и вызывает пролиферацию гладкомышечных клеток. Инициаторами дисфункции эндотелия являются гипоксия и инфекционные патогены ЛПС грамотрицательных бактерий, вирусы, токсины, транслокация бактерий из кишечника и экзогенные ксенобиотики. Гиперпродукция оксида азота, обусловленная экспрессией индуцибельной синтазы оксида азота под действием эндо- и экзотоксинов, медиаторов воспаления, активаторов свободнорадикального окисления, происходит при воспалительных процессах различной этиологии. При высоких концентрациях оксида азота цитотоксическое действие может привести к различным патологическим проявлениям аутоиммунного характера. Оксид азота инициирует в клетках и тканях синтез белков теплового шока, усиливающих защитные системы организма. В медицинских целях используют в качестве NO-содержащих соединений нитрозотиолов и динитрозильных комплексов железа. Они обеспечивают транспорт оксида азота и его запасаение в клетках и тканях для протекания многочисленных биохимических процессов как в цитозоле, так и в клеточном ядре.

Метаболический синдром, проявлениями которого являются абдоминальное ожирение, гиперлипидемия, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, сахарный диабет 2-го типа и тканевая инсулинорезистентность, приводит к патологическим изменениям в печени в 30% случаев: к неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) — стеатозу или к стеатогепатиту [30–33].

Формирование стеатогепатита сопровождается воспалительно-некротическими изменениями в печени.

При избыточном бактериальном росте в кишечнике нарушаются процессы ферментативного гидролиза белков и синтеза витаминов, что приводит к дефициту белков, ферментов и коферментов, участвующих в синтезе ЛПОНП, вследствие чего жир не выводится из гепатоцита, а накапливается в печени. Хронический эндогенный дефицит в клетках жирных кислот приводит к изменению жирнокислотного состава фосфолипидов и физико-химических свойств плазматических мембран клеток. Результатом этого являются нарушение активности Na, K-АТФ-азы и снижение чувствительности к инсулину. Нарушение толерантности к глюкозе также является результатом этого процесса. При нарушении кишечного барьера в портальную





Рис. 2. Содержание метаболитов оксида азота.



Рис. 3. Содержание эндотоксина в сыворотке крови больных НАЖБП.



Рис. 4. Биохимические показатели крови у больных НАЖБП.



Рис. 5. Корреляция оксида азота с АЛТ; по вертикали — оксид азота в мкмоль/л; по горизонтали — АЛТ в Ед/л; коэффициент корреляции 0,86.

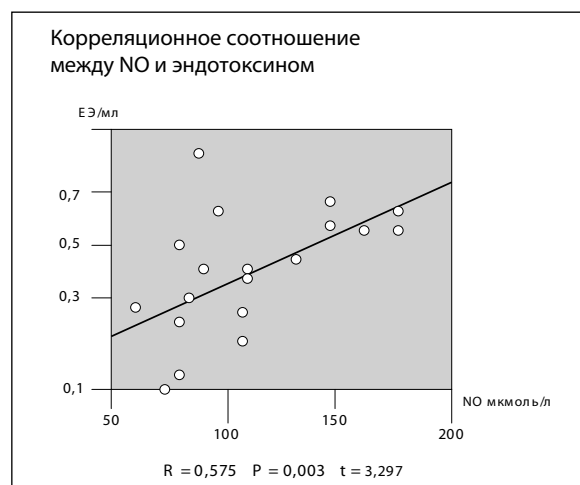


Рис. 6. Корреляционная связь между оксидом азота и эндотоксином: коэффициент корреляции 0,57; по вертикали — количество эндотоксина в ЕЭ/мл; по горизонтали — оксид азота в мкмоль/л.

систему печени поступают бактерии и их токсины, что приводит к развитию воспаления и некрозу гепатоцитов [33; 34].

При кислородной недостаточности блокируются ферменты, участвующие в синтезе липопротеидов очень низкой плотности, которые являются транспортной системой выведения жира из гепатоцита. Свободные жирные кислоты (СЖК) являются субстратом перекисного окисления липидов, активация которого приводит к развитию стеатогепатита.

Новейшие достижения в области экспериментальных и клинических исследований указывают на тесную связь многих патологических состояний с процессом свободнорадикального окисления (СРО), который рассматривается как универсальный механизм повреждения клетки. Поскольку образование радикалов происходит преимущественно на мембранах клетки, в частности гепатоцита, есть основания полагать, что воспалительная и некротическая активность и синдром цитолиза, выполняющих важную роль в повреждении печени, во многом обусловлены характером регуляции СРО.

Перекисное окисление липидов в печени может приводить к образованию потенциально токсичных промежуточных продуктов, которые могут вызвать воспалительные процессы в печени. Накопление свободных жирных кислот в гепатоцитах может приводить к набуханию митохондрий, повышенной склонности к их разрушению и усилению мембранной проницаемости, что в свою очередь может стать причиной повышения активности аминотрансфераз [30; 32; 34].

Свободный радикал оксид азота в клетке быстро взаимодействует с молекулярным кислородом, супероксидным анион-радикалом и металлами гемсодержащих белков. В результате в клетке образуются нитрозильные комплексы железа. NO взаимодействует с SH-группами белков, происходит нитрозилирование и изменение активности металлсодержащих белков.

В эксперименте изучали роль эндотелиальной и индуцируемой форм синтазы оксида азота в повреждении печени в процессе ишемии и пришли к выводу, что синтаза оксида азота играет важную роль в защите клеток печени от повреждающего действия [33].

Целью настоящего исследования было изучение роли метаболитов кишечной микрофлоры оксида азота и эндотоксина при НАЖБП.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было обследовано 130 больных НАЖБП, из них 45 мужчин и 85 женщин. Больные были разделены на 2 группы в зависимости от стадии НАЖБП. 1-я группа: НАЖБП в стадии стеатоза — 50 больных. Возраст 53–55 лет 20 мужчин и 30 женщин с ИМТ 33,2. 2-я группа: НАЖБП в стадии стеатогепатита — 80 больных. Возраст больных 55–57 лет с ИМТ 36,4.

Верификацию диагноза больным проводили по данным клинических, биохимических, инструментальных методов исследования и морфологического анализа биопсийной ткани печени. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц.

Для статистической обработки данных использовались программы *MS Excel* и *Biostat*.

Уровень метаболитов оксида азота в сыворотке крови определяли скрининг-методом, который достаточно точно отражает степень активности синтазы оксида азота. После депротеинизации сыворотки крови с помощью этилового спирта и центрифугирования уровень метаболитов (суммарную концентрацию нитратов и нитритов) определяли колориметрическим методом по развитию окраски в реакции диазотирования нитритом сульфаниламида, входящего в состав реактива Грисса. Восстановителем служил ванадия хлорид (Германия). При оценке эндогенного синтеза оксида азота прежде всего следует учитывать состав диеты. Кровь брали натощак после низконитратного ужина [28].

Актуальным представляется определение степени избыточной продукции оксида азота при различных патологических состояниях, сопровождающихся воспалением, в данном случае при стеатогепатите. Концентрация оксида азота будет отражать активность индуцибельной изоформы NO-синтазы.

Содержание эндотоксина определяли с помощью ЛАЛ-теста (США). Тест является наиболее чувствительным и высокоспецифичным способом оценки содержания бактериальных эндотоксинов — фрагментов клеточной стенки грамотрицательных бактерий, которые являются наиболее известными пирогенами. Эндотоксины грамотрицательных бактерий приводят к активации проферментов, которые являются сериновыми протеазами.

Оценка степени воспаления и фиброза с помощью УЗИ затруднена и ненадежна, поэтому содержание оксида азота и бактериального эндотоксина как маркеров воспалительной реакции может служить ранним критерием оценки степени воспаления и перехода стеатоза в стеатогепатит, когда еще не повышены ферменты печени.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При ожирении нарушается структура и функция клеточной мембраны, повреждаются сигнальная и транспортная система, блокируется поступление в клетки глюкозы и жирных кислот, тем самым повышается уровень в крови свободных насыщенных жирных кислот.



Индекс массы тела у больных стеатозом печени составлял  $33,2 \pm 1,2$ , а у больных стеатогепатитом превышал показатели нормы и был в среднем равен  $36,4 \pm 1,7$ .

Жировая ткань является источником биологически активных веществ, в том числе фактор некроза опухолей (ФНО), ключевой медиатор инсулинорезистентности, лептин-активатор окисления жирных кислот и др. [32]. При значительном увеличении массы жировой ткани развивается инсулинорезистентность. Имеются данные, что гипертрофированные адипоциты выделяют ИЛ-6 и его повышенный уровень может способствовать выработке фибриногена при висцеральном ожирении и диабете [34].

У всех больных с НАЖБП в стадии стеатогепатита выявлено достоверное повышение в плазме крови активности ферментов цитолиза и холестаза АЛТ и АСТ, а также ГГТП. Показатели липидного спектра у обследуемых больных существенно изменялись: у всех было повышено общее содержание липидов, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов (ТГ), а уровень липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) снижен. Уровень глюкозы был выше нормальных показателей почти в 2 раза и составлял  $7,6$  ммоль/л (норма  $4,1-5,9$  ммоль/л). Содержание холестерина повышено до  $6,03$  ммоль/л (норма  $1,4-5,2$  ммоль/л). ЛПНП:  $4,8$  (норма  $2,3-4,0$  ммоль/л). ЛПВП:  $1,19$  (норма  $0,9-2,0$  ммоль/л). ТГ:  $2,03$  (норма  $0-1,7$  ммоль/л). АСТ:  $82,9$  (норма  $5-35$  Е/л). АЛТ:  $97,5$  (норма  $5-45$  Е/л). При проведении пункционной биопсии печени определялись признаки неалкогольной жировой болезни печени в стадии стеатоза печени (рис. 7 на цветной вклейке в журнал) в стадии стеатогепатита: стеатогепатит с формированием смешанноклеточных гранул вокруг очагов некроза (рис. 8 на цв. вклейке), стеатогепатит с высокой степенью жировой инфильтрации (рис. 9 на цв. вклейке), стеатогепатит с липогранулемой (рис. 10 на цв. вклейке).

Содержание стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови больных НАЖБП представлено на рис. 2.

Согласно полученным данным, у больных с НАЖБП на стадии стеатогепатита обнаружено достоверное повышение уровня метаболитов оксида азота:  $207,64 \pm 15,06$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ), при стеатозе печени уровень NO составил  $64,7 \pm 4,26$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ) по отношению к контролю.

Усиление синтеза оксида азота может играть важную роль в защите клеток печени от повреждающего действия токсических веществ. С другой стороны, избыток NO ухудшает функцию эндотелия, подавляет продукцию эндотелиального NO и угнетает сократительную функцию миокарда. Выявлено достоверное повышение оксида азота у больных НАЖБП в стадии стеатогепатита по сравнению с больными стеатозом печени и контролем. Уровень метаболитов возрастал параллельно

активности печеночных ферментов АЛТ, АСТ, ГГТП (рис. 4).

При стеатогепатите вокруг очагов стеатонекроза формируются воспалительные гранулемы. Оксид азота является ключевым соединением в системе регуляции микроциркуляции и других жизненно важных процессов, таких как свертывание крови. Первичные медиаторы воспаления — цитокины — формируют воспаление и инициируют синтез гепатоцитами комплекса вторичных медиаторов воспаления [24; 36]. При гипергликемии и ожирении не только гепатоциты, но и адипоциты секретируют белки острой фазы воспаления. По литературным данным, при стеатогепатите в гепатоцитах синтезируются различные медиаторы воспаления, в том числе индуцибельная синтаза оксида азота, секретируются из жировой ткани и регулируют чувствительность рецепторов к инсулину [27]. Характерной чертой воспаления является накопление нейтральных липидов, главным образом триглицеридов, в цитозоле печеночных клеток. Воспаление и дефицит жирных кислот в большинстве клеток являются причиной того, что в клетках снижается синтез холестерина. У больных атеросклерозом изменяется характер взаимодействия липопротеидов крови и биомембран эндотелия сосудистой стенки, что способствует усиленному переходу холестерина в клетку. Образуются более вязкие мембраны, насыщенные холестерином.

Инфильтрация интимы кровеносных сосудов липидами происходит при каждом воспалительном процессе независимо от этиологии. В первую очередь происходят нарушения в мембранных белках — транспортерах глюкозы, что приводит к развитию инсулинорезистентности. Дефицит в клетках жирных кислот моделирует высокий потенциал воспаления, гиперкоагуляции и различных осложнений. Обнаружена связь массы жира в организме и его расположением в абдоминальной области с маркерами хронического воспаления [36].

У больных НАЖБП в стадии стеатогепатита отмечается увеличение содержания метаболитов оксида азота, обусловленное повышением уровня липопротеидов низкой плотности, которые стимулируют активность индуцибельной синтазы оксида азота.

Биологические эффекты оксида азота определяются его биодоступностью, а также его содержанием, утилизацией в тканях или окислением при участии СР и модифицированных ЛПНП и других соединений. Как избыток, так и дефицит оксида азота неблагоприятен для организма. Высокие концентрации токсичны для клеток, ферментов, вызывают модификацию белков, повреждают нуклеиновые кислоты. Оксид азота и супероксидные радикалы регулируют окисление ЛПНП и приводят к их модификации [23; 24]. По данным литературы, избыток оксида азота ингибирует белки-ферменты дыхательной цепи митохондрий и цикла

Кребса, снижает синтез АТФ, что ведет к некрозу или апоптозу печеночных клеток.

Эндотоксин-бактериальный липополисахарид (ЛПС), входящий в состав внешней мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, является стимулятором продукции макрофагами оксида азота. Структура ЛПС включает три домена-липид А, небольшое ядро из олигосахаридов и О-антиген, липид А- структура, в состав которой входят в основном жирные кислоты, глюкозамин и остатки фосфорной кислоты. Эндотоксин взаимодействует с различными клетками крови и тканей — это эндотелиальные клетки, тромбоциты, макрофаги, нейтрофилы, базофилы, тучные клетки, гепатоциты. Эндотоксин связывается с атерогенными липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) и транспортируется к органам и тканям. Индукция бактериальными эндотоксинами индуцибельной синтазы оксида азота и образующийся под ее влиянием оксид азота играют главную роль в подавлении активности бактериальных и опухолевых клеток путем блокирования некоторых их ферментов, в развитии и поддержании патологического процесса в организме. Эндотоксины и цитокины индуцируют воспалительную реакцию организма, что приводит к повреждению гепатоцита. Эндотоксины, поступающие в системный и портальный кровоток, оказывают токсическое действие на эндотелий сосудов и синусоиды печени. Единственным источником поступления эндотоксина в системный кровоток является кишечник, проницаемость барьеров которого зависит от множества факторов. У больных НАЖБП в стадии стеатогепатита активность эндотоксина была увеличена в 7 раз и составляла  $2,2 \pm 0,04$  ЕЭ/мл (рис. 3). Увеличение активности эндотоксина сопровождалось ростом синтеза оксида азота и прогрессированием воспалительной инфильтрации печени, что

подтверждает прямая корреляционная взаимосвязь ( $r = 0,57$ ) (рис. 4).

## ВЫВОДЫ

1. Выявленные изменения метаболитов кишечной микрофлоры (повышение оксида азота и эндотоксина у больных с НАЖБП) являются наиболее достоверными показателями, характеризующими степень дисбиоза толстой кишки и хронического субклинически протекающего воспаления в печени.

2. У больных с неалкогольной жировой болезнью печени с повышенной активностью печеночных ферментов наблюдается повышение оксида азота и эндотоксина в 6–7 раз по сравнению с группой контроля. Уровень оксида азота и активность АЛТ находятся в прямой корреляционной зависимости. Коэффициент корреляции равен 0,86. Данная взаимосвязь свидетельствует о повышении синтеза оксида азота от степени воспалительного процесса в печени, что подтверждается морфологическими исследованиями биоптатов печени.

3. Достоверное увеличение продукции бактериального сывороточного эндотоксина в 7 раз сопровождалось ростом синтеза оксида азота, что подтверждает прямая корреляционная зависимость. Коэффициент корреляции равен 0,57. При повышении эндотоксина и оксида азота выявлено прогрессирование воспалительной инфильтрации печени.

4. Повышение оксида азота и эндотоксина является ранним диагностическим критерием развития неалкогольного стеатогепатита, предшествующим повышению активности печеночных ферментов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Артюнов Г. А. Биоценоз кишечника и сердечно-сосудистый континуум / Г. А. Артюнов, Л. И. Кафарская, В. К. Власенко и др. // Сердечная недостаточность. — 2004. — Т. 5, № 5. — С. 224–229.
2. Карнаушкина М. А. Бронхиальная проходимость у больных крапивницей и токсикодермией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1997. 24 с.
3. Клеменов А. В. Хроническая дуоденальная непроходимость и дисбактериоз кишечника как факторы патогенеза бронхиальной астмы у больных с несостоятельностью илеоцекального клапана / А. В. Клеменов, В. Л. Мартынов // Аллергология. — 2003. — № 1. — С. 23–26.
4. Конев Ю. В. Атеросклероз и эндотоксин / Ю. В. Конев, Л. Б. Лазебник, М. Ю. Яковлев и др. // Клин. геронтология. — 2004. — № 7. — С. 36–42.
5. Коннов П. Е. Состояние органов пищеварения и гуморальных факторов иммунитета при экзематозном процессе с сенсibilизацией к пылевым аллергенам: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Самара, 2003. — 17 с.
6. Conraads V. M. Selective intestinal decontamination in advanced chronic heart failure a pilot study / V. M. Conraads, P. G. Jorens, L. S. De Clerck et al. // Europ. J. Heart. Fail. — 2004. — Vol. 6. — P. 483–491.
7. Kruger S. Endotoxin sensitivity and immune competence in chronic heart failure / S. Kruger, D. Kunz, J. Graf et al. // Clin. Chim. Acta. — 2004. — Vol. 343, № 1–2. — P. 135–139.
8. Sontag S. J. Most asthmatics have gastroesophageal reflux with or without bronchodilator therapy / S. J. Sontag, S. O'Connell, S. Khandelwal et al. // Gastroenterology. — 1990. — Vol. 99, № 3. — P. 613–620.
9. Tsunooka N. Ischemia of the intestinal mucosa during cardiopulmonary bypass / N. Tsunooka, Y. Hamada H. Imagawa et al. // Artif. Organs. — 2003. — Vol. 6, № 2. — P. 149–151.
10. Wigg A. J. The role small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia and tumor necrosis factor — alfa in a pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / A. J. Wigg, J. G. Robert-Thompson, R. B. Dymock // Gut. — 2001. — Vol. 48. — P. 206–211.
11. Rolfe R. D. Interactions among microorganisms of the indigenous intestinal flora and their influence on the host // Rev. Infect. Dis. — 1984. — Vol. 6. Suppl 1. — P. 73–79.
12. Карнейро де Мур М. Неалкогольный стеатогепатит // Клин. перспективы в гастроэнтерол., гепатол. — 2001. — № 2. — С. 12–15.
13. Репин В. С., Сухих Г. Т. Медицинская клеточная биология. — М., 1998.
14. Heaton K. W. The role of the large intestine in cholesterol gallstone formation // Bile acids in hepatobiliary diseases / Eds.: T. C. Northfield, H. A. Ahmed, R. P. Jazrawl, P. L. Zeutler-Munro. — Kluwer Publisher, Dordrecht. 2000. — P. 192–199.
15. Ткаченко Е. И., Успенский Ю. П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. — СПб.: СпецЛит, 2006. — 590 с.





16. Ткаченко Е. И., Суворова А. Н. Дисбиоз кишечника // Руководство по диагностике и лечению. — СПб.: СпецЛит, 2007. — 238 с.
17. Mdtvebt T. Intestinal microbial conversion of cholesterol to coprostanol mark. Influence of antibiotics / T. Mdtvebt, E. Lingsaas, B. Carlsedt-Duke et al. // Acta path. Microbial. — 1990. — Vol. 98. — P. 967–981.
18. Ардатская М. Д. Диагностическое значение содержания короткоцепочечных жирных кислот при синдроме раздраженного кишечника // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. — 2000. — Т. 10, № 3. — С. 36–41.
19. Cherbut C. Effects of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility / C. Cherbut, A. C. Aube, H. M. Blottiere, J. P. Galmiche // Scand. J. Gastroenterology. — 1997. — Vol. 32, Supp. 222. — P. 58–61.
20. Husebye E. The role of normal microbial flora in control of small intestine motility / E. Husebye, R. Hellstrom, T. Midtvedt // Microbiol. Ther. — 1990. — Vol. 20. — P. 389–394.
21. Jenkins D. J. A. Inulin, Oligofructose and Intestinal Function / D. J. A. Jenkins, C. W. C. Kendall, V. Vuksan // J. Nutr. — 1999. — Vol. 129. — P. 1431–1433.
22. Джанашия П. Х., Назаренко В. А., Николенко С. А. Дислипотеидемии: клиника, диагностика, лечение. — М.: РГМУ, 2000. — 47 с.
23. Титов В. Н. Диагностическое значение эндотелийзависимой вазодилатации. Функциональное единение эндотелина, оксида азота и становление функции в филогенезе // Клин. лабор. диагностика. — 2009. — № 2. — С. 3–12.
24. Титов В. Н. Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушение биологических реакций воспаления и артериального давления / В. Н. Титов, С. Ф. Дугин // Клин. лабор. диагностика. — 2010. — № 4. — С. 21–37.
25. Горожанская Э. Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях // Клин. лабор. диагностика. — 2010. — № 6. — С. 28–44.
26. Манухина Е. Б. Защитные и повреждающие эффекты периодической гипоксии: Роль оксида азота / Е. Б. Манухина, Х. Ф. Дауни, Р. Т. Маллет, И. Ю. Малышев // Вестн. РАМН. — 2007. — № 2. — С. 25–33.
27. Moncada S. Nitric oxide and cell. Respiration Physiology and Pathology // Verk Kon. Acad. Genelsk Belg. — 2000. — Vol. 62. № 3. — P. 171–179.
28. Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Клин. лаборат. диагн. — 2005. — № 6. — С. 15–18.
29. Ивашкин В. Т. Ядерные рецепторы и патология печени. Ч. 1 // Рос. журн. гастроэнтер. гепатол. колопроктол. — 2010. — № 3. — С. 4–8.
30. Урсова Н. И. Жировая дистрофия печени при метаболическом синдроме в практике врача педиатра // Леч. врач. — 2010. — № 1. — С. 14–17.
31. Шульпекова Ю. О. Роль липидов в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени // Рос. журн. гастроэнтер., гепатол., колопроктол. — 2012. — № 1. — С. 45–56.
32. Ивашкин В. Т. Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская // Рос. журн. гастроэнтер., гепатол., колопроктол. — 2010. — № 1. — С. 4–13.
33. Kanaehi Shigeyki, Hines Jan N. Nitric oxide synthase and postischemic liver injury // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 2000. — Vol. 276, № 3. — P. 851–854.
34. Festa Adostino R. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation / R. Festa Adostino, K. Williams, A. I. Karter // Int. J. Obesity. — 2001. — Vol. 25, № 10. — P. 1407–1415.
35. Ивашкин В. Т. Основные причины лихорадки у пациентов с нарушением функции печени / В. Т. Ивашкин, М. А. Морозова, М. В. Маевская // Рос. журн. гастроэнтер., гепатол., колопроктол. — 2010. — № 1. — С. 21–29.
36. Alison B. Nitric oxide regulation of free radical and enzymemediated lipid and lipoprotein oxidation // Atherosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol. — 2000. — Vol. 20, № 7. — P. 1707–1715.

## РОЛЬ МЕТАБОЛИТОВ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ В ДИАГНОСТИКЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

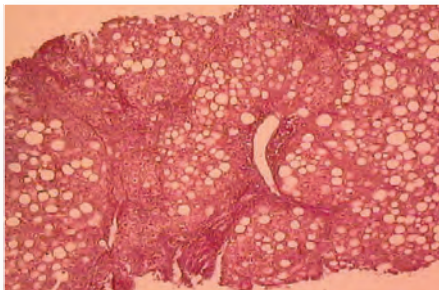


Рис. 7. Выраженный стеатоз печени.

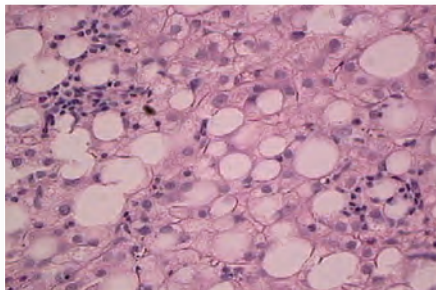


Рис. 8. Стеатогепатит с формированием смешанноклеточных гранулем вокруг очагов стеатонекроза.

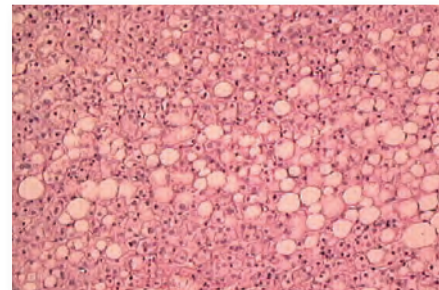


Рис. 9. Стеатогепатит с высокой степенью жировой инфильтрации.

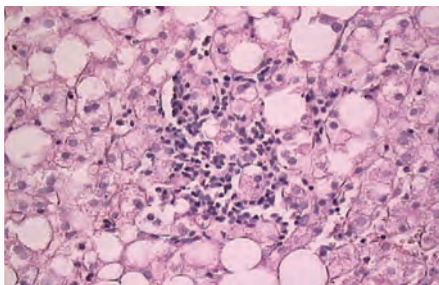


Рис. 10. Липогранулема при стеатогепатите.