

УДК: 616-36.36.001-07: 577.15

ТОКСИК ГЕПАТИТДА ЖИГАРНИНГ МОРФО-ФУНКЦИОНАЛ ҲОЛАТИНИ БАҲОЛАШ



Ахмедов Мирхалил Джалилович, Аскарлов Тохир Аскарлович, Файзиев Ёкупджан Нишанович, Ашурметов Ахмаджон Махамаджанович, Ўсаров Анвар Мавлонович, Долим Кенжабек Субутой угли Тошкент педиатрия тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

ОЦЕНКА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Ахмедов Мирхалил Джалилович, Аскарлов Тохир Аскарлович, Файзиев Ёкупджан Нишанович, Ашурметов Ахмаджон Махамаджанович, Усаров Анвар Мавлонович, Долим Кенжабек Субутой угли Ташкентский педиатрический медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент

ASSESSMENT OF THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER IN TOXIC HEPATITIS

Akhmedov Mirkhalil Djalilovich, Askarov Toxir Askarovich, Fayziev Yakupdjan Nishanovich, Ashurmetov Akhmadjon Mahamadjanovich, Usarov Anvar Mavlonovich, Dolim Kenjabek Subutoy ugli Tashkent Pediatric Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: [info@tpi.uz](mailto:info@tpi.uz)

**Резюме.** Долзарблиги: Ҳозирги вақтда бутун дунёда жигар касалликлари билан оғъриган беморларнинг сони ўсиб бормоқда. Шунингдек, турли хил жигар патологиялари кўп ҳолларда жиддий асоратларнинг ривожланиши билан бирга, хаттоки, жигар этишмовчилигининг пайдо бўлишига қадар олиб келади. Мақсад: Ушбу тадқиқот жигар паренхимасининг токсик зарарланишида цитохром оксидаза фаоллигини кўрсатади. Токсик гепатитнинг турли даврларида жигар шикастланиши билан улар цитохром оксидаза ферментини инактивлигига олиб келиши аниқланади. Маълум миқдорда шикастланган (ёки бузилмаган) жигар паренхимасига мос келадиган коэффициент даражаси ўрнатилган. Материаллар ва услублар: Гепатоцеллюляр этишмовчилигининг экспериментал моделини яратиши учун оғъирлиги 180-220 гр бўлган 110 та эркак Вистар каламушлари керак бўлади. 3 та тажриба серияси ўтказилади. Хулоса. Ушбу тестдан фойдаланиши жигар шикастланиши учун диагностика воситаси бўлиб хизмат қилиши мумкин. Паренхиманинг сақлаб қолишининг миқдорий аниқлаш имконини беради.

**Калим сўзлар:** ўтқир жигар этишмовчилиги, жигар паренхимаси, токсик шикастланиш, ишемия, ҳайвонлар, митохондрия.

**Abstract.** Relevance of the topic. At present, there is a steady increase in the number of patients with liver diseases all over the world. At the same time, various hepatic pathologies in most cases are accompanied by the development of serious complications up to the appearance of liver failure [1,2,3]. Purpose: this study shows the activity of cytochrome oxidase in toxic lesions of the liver parenchyma. It was found that in case of liver damage at various periods of toxic hepatitis, they lead to inhibition of cytochrome oxidase. The level of the coefficient is set corresponding to a certain amount of damaged (or intact) liver parenchyma. Materials and methods. To create an experimental model of hepatocellular insufficiency, the experiments were carried out on 110 male Vistar rats weighing 180-220 g. 3 series of experiments were carried out. Conclusions. The use of this test can serve as a means of diagnosing liver damage. Allows to quantify the delay of the parenchyma.

**Key words:** acute liver failure, liver parenchyma, toxic damage, ischemia, animals, mitochondria.

**Мавзунинг долзарблиги.** Ҳозирги вақтда бутун дунёда жигар касалликлари билан оғъриган беморларнинг сони ўсиб бормоқда. Шунингдек, турли хил жигар патологиялари кўп ҳолларда жиддий асоратларнинг ривожланиши билан

бирга, хаттоки, жигар этишмовчилигининг пайдо бўлишига қадар олиб келади [1,2,3]. ЎЖЕ ни тшҳислаш оддий кўринишдалигига қарамай, амалда кўпинча мураккаб клиник кўриниш, аниқ оғъирлаштирувчи омилнинг ёъклиги, жигар

касаллигининг сўнгги босқичи билан дифференсиал ташхис кўйишдаги кийинчиликлар ва махсус терапевтик аралашувлар зарурати ва мақсадга мувофиқлигини аниқлаш амалда ушбу синдромни ташхислаш осон эмас.

ЎЖЕ диагностикаси – анамнез, клиник кўриниш, биокимёвий ўзгаришларга асосланади [2,4,14].

#### Материаллар ва услублар.

Гепатоцеллюляр этишмовчиликнинг экспериментал моделини яратиш учун оғирлиги 180-220 гр бўлган 110 та эркак Вистар каламушлари керак бўлади. 3 та тажриба серияси ўтказилади:

1. Назорат гуруҳи.

2. ДЛ-галактозаминни қорин бўшлиғига юбориш орқали 150 мг / 100 г масса дозасида захарлангандан сўнг [5,6] (12 соат, 18 соат, 24 соат ва 48 соатдан кейин тадқиқотлар).

3. 0,25 мл / 100 г ССЛ4 массаси [6,7,8] (12 соат, 18 соат, 24 соат ва 48 соатдан кейин

тадқиқотлар) қорин бўшлиғига инъектсиядан сўнг.

Ҳайвонлар совуқ хонада декапитатсия қилинади. Жигар тезда ажратиб олинади, тезда ювилади ва 0,25 сахароза,  $2 \times 10^{-4}$  М ЭДТА (этилендиаминотетраатсетат) дан ташкил топган муҳитда гомогенат тайёрланди; 0,01 М Трис-НЛС буфери рН 7,4 бўлган тўқималар ва муҳит 1: 2 нисбатда. Поларографик таҳлил ЛП-7 поларографидида стандарт ёпиқ турдаги платина Кларк электроди билан амалга оширилади [9].

1,1 мл полярографик кюветага. гомогенат навбат билан 1-2 мг миқдоридида солинади. Оксил, 2 мМ якуний концентратсияда натрий аскорбат, ТМДФ- [10] (тетраметиленапарафенилендиамин) - 1 мкМ ва цитохром-С- [11] 1 мкМ. Нафас олиш тезлиги нмол  $O_2$  / минут.мг.оксил да ифодаланган. Прогностик коэффитсиент (ПК) формула бўйича ҳисоблаб чиқилган:  $ПК = \frac{\text{Цитохром С} - \text{Аскорбат Na}}{\text{ТМДФ} - \text{Аскорбат Na}}$

Ксеноген гепатотситларнинг суспензияси Берри-Фриенднинг комбинатсияланган усули ва А.И. Арчаков [12] комбинатсияси билан олинган.

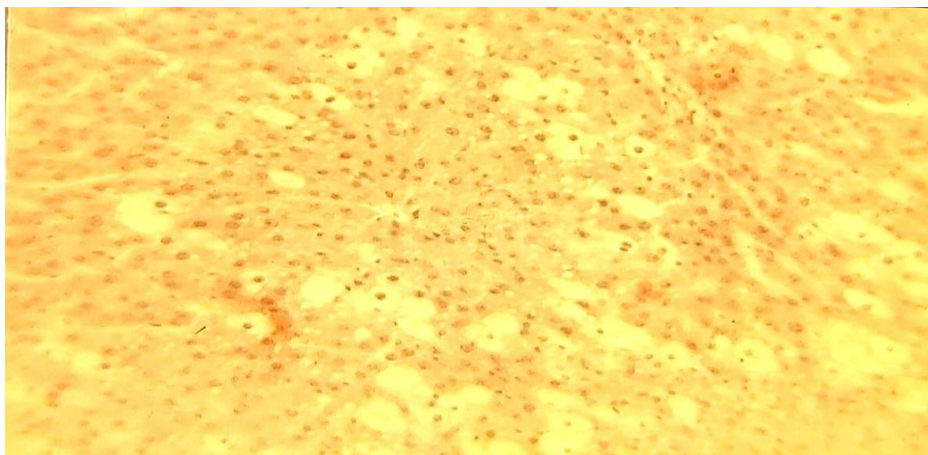
**Жадвал 1.** Турли метаболик ҳолатлардаги тажриба ҳайвонлари жигарининг кислород истеъмол қилиш даражаси (нмол  $O_2$  мин-1 мг оксилда)

Тадқиқот даври	Аскарбатга боғлиқ $O_2$ га бўлган талаб	ТМДФ -оксидаза активлиги	цитохром-С оксидаза активлиги
Назорат гуруҳи	10,50±0,15	20,00±1,50	27,90±3,00
ДЛ-галактозамин (соат): 12 дан сўнг	17,10±0,98*	21,90±1,10	41,80±3,50*
18	13,10±0,60*	17,00±0,60	40,01±1,16*
24	13,50±0,60*	15,90±0,60*	36,82±0,60*
48	13,00±0,40*	15,10±0,80*	39,01±4,43*
ССЛ4, 12 соатдан сўнг	13,73±0,37*	21,90±0,41	73,20±3,03*
24	11,82±0,41	14,85±0,44	65,90±2,02*

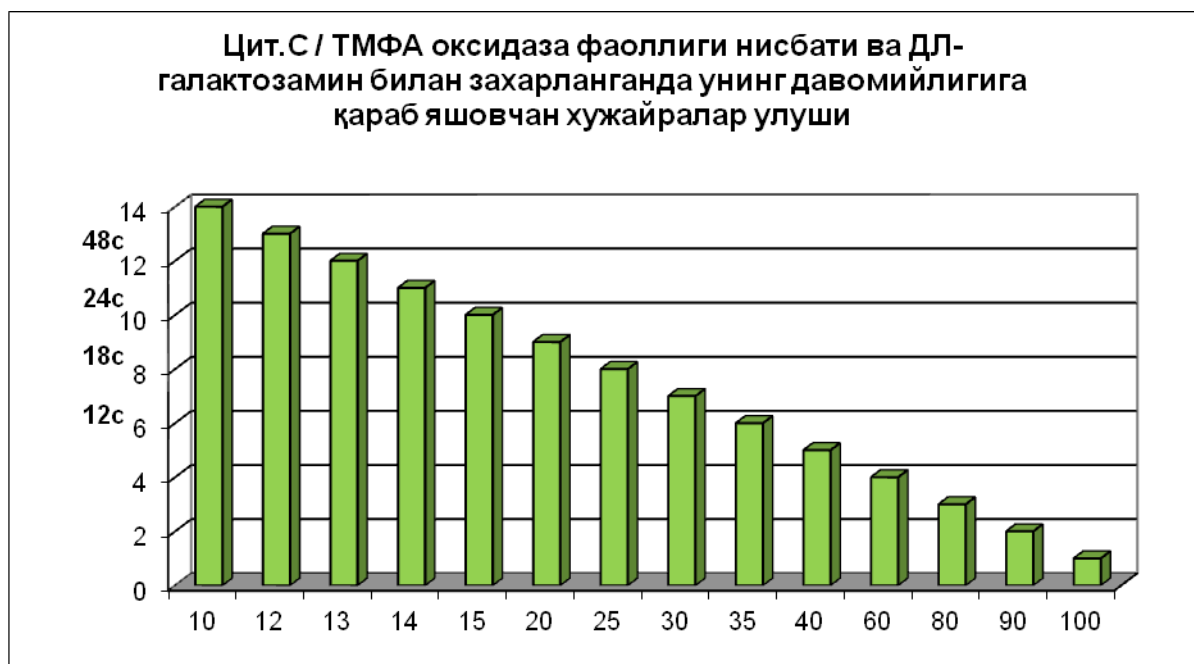
Эслатма: \* - назорат ва экспериментал гуруҳларнинг кўрсаткичлари ўртасидаги мумкин бўлган фарқ ( $P < 0,05$ ).



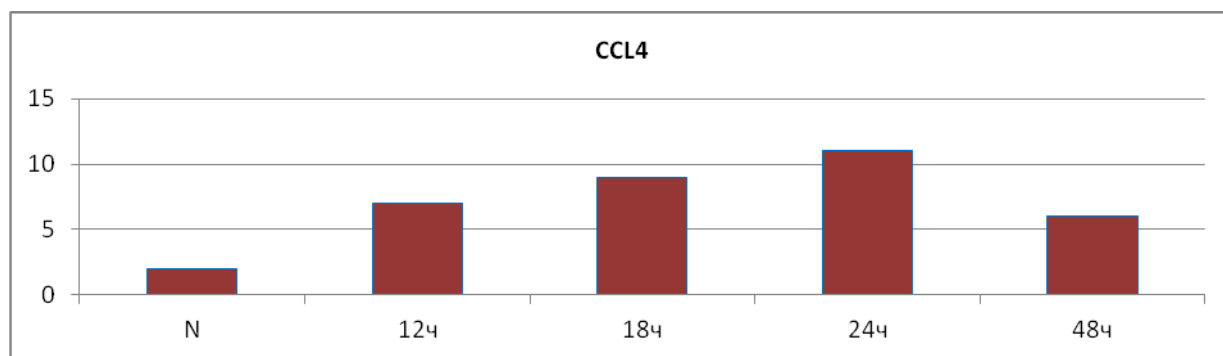
**Расм 1.** ДЛ-галактозамин билан захарлашдан 12 соат ўтгач, перифокал лимфа-лейкотситар инфилтратсияси билан гепатотситларнинг ўчоқли вакуоляр дегенератсияси. Гематоксилин ва эозин билан бўяш. Катталаштириш х 200



**Расм 2.** ДЛ-галактозамин билан захарлашдан 48 соат ўтгач, гепатотситлардаги умумий некробиёттик ўзгаришлар. Гематоксилин ва эозин билан бўяш. Катталаштириш x 200



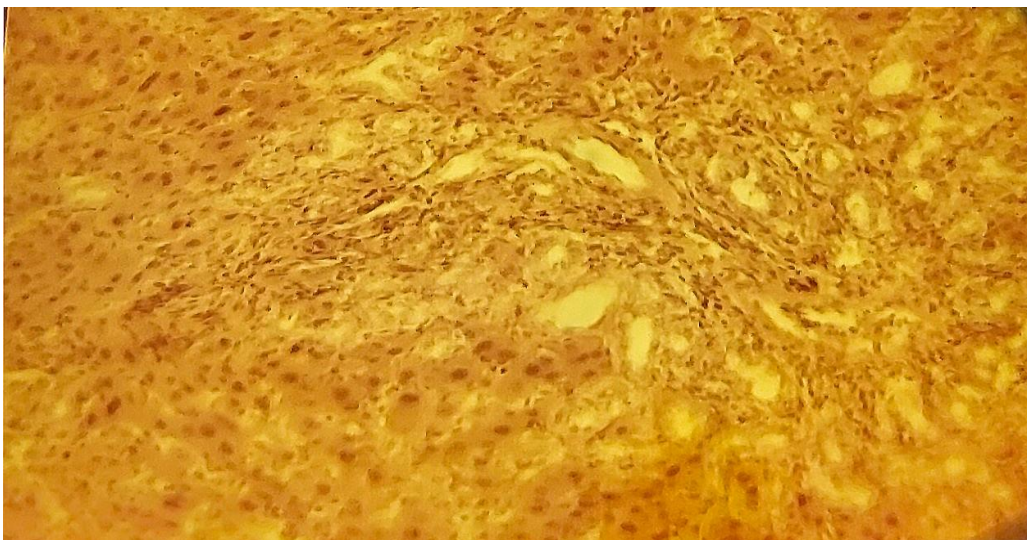
**Расм 3.** ДЛ-галактозамин билан захарлашдан кейин (12, 18, 24 ва 48 соатдан кейин) ҳаётий жигар хужайралари сонини ҳисоблаш ва уларнинг коэффитсиент билан нисбати



**Расм 4.** ССЛ4 ни экишдан кейин коэффицентнинг қиймати (12, 18, 24 ва 48 соатдан кейин)

Олинган гепатотситларнинг морфологик сақланиш даражаси ёруглик ва фаза-контраст микроскопия усули билан олдиндан бўялган витал бўёқ - 0,2% трипан кўки ёрдамида баҳоланади. Рақамли материал ўзгарувчанлик статистикаси усули билан қайта ишланади [13].

**Натижалар ва муҳокама.** Поларографик тадқиқотлар шуни кўрсатдики,  $O_2$  нинг аскорбатга богълиқ истеъмоли 62,8% га ошган ( $p < 0,05$ ), кейинчалик бу кўрсаткич аста-секин пасайди ва тажриба охирига келиб бу ўсиш атиги 23,8% ни ташкил қилди.



**Расм 5.** ССЛ4 билан захарлангандан 12 соат ўтгач, некроз, гепатотситларнинг кичик томчи вакуолизатсияси, бўлақлар атрофи бўйлаб ҳужайраларнинг ёғланиши мавжуд. Гематоксилин ва эозин билан бўйаш. Катталаштириш x 200



**Расм 6.** ССЛ4 билан захарлангандан кейин 24 соат ўтгач, гепатотситлардаги умумий некробиёттик ўзгаришлар. Гематоксилин ва эозин билан бўйаш. Катталаштириш x 200

Аксинча, жигар гомогенатининг ТМПД-оксидаза фаоллиги аста-секин камайди (48 соатлик захарлашдан кейин 24,5% га). цитохром-С оксидаза фаоллиги бутун тадқиқот даврида статистик жиҳатдан сезиларли даражада 30-50% га ошди.

Жигар тўқималарининг морфологик текшируви шуни кўрсатдики, ДЛ-галактозамин билан захарлашдан 12 соат ўтгач (1-расм) - жигарнинг нурланиш тузилиши биров бузилган, гепатотситлар контурлари ноаниқ.

Паренхима ҳужайраларида ядроларнинг хроматин камайиши кузатилади. Лейкотситлар аралашмаси бўлган думалоқ ҳужайрали инфилтратлар бутун паренхима бўйлаб тарқалган. Инфилтратлар кўпинча венос томирлар яқинида локализе қилинади.

Захарлаш бошланишидан (18 ва 24 соат) вақт давомийлигининг ошиши билан бу ўзгаришлар кучаяди ва 48 соатда (2-расм) улар

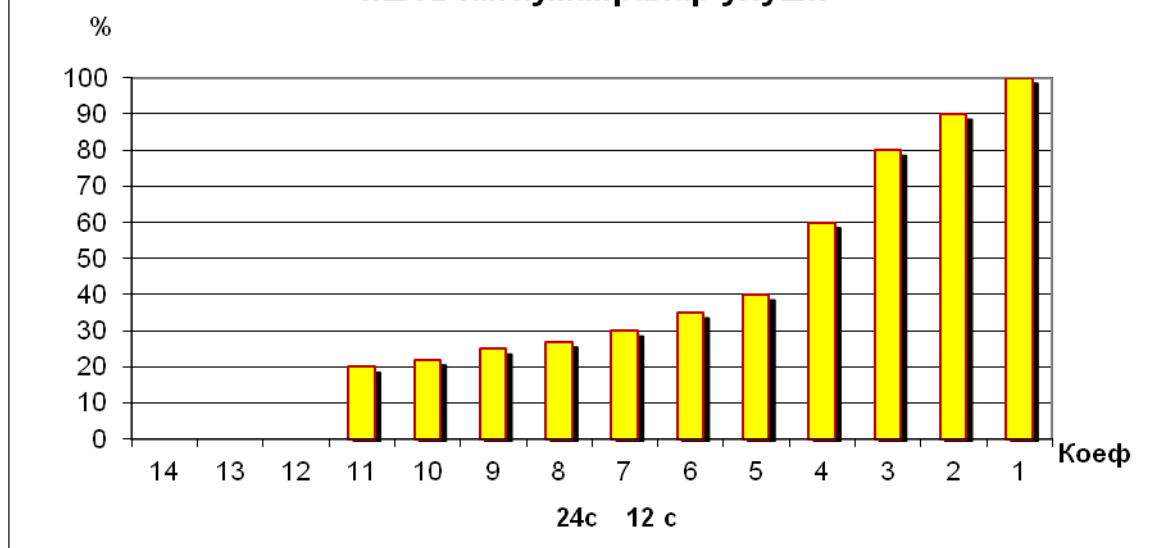
энг оғир зарарни акс эттиради: гепатотситлардаги умумий некробиёттик ўзгаришлар.

Ҳаётий жигар ҳужайралари сонини ҳисоблаш шуни кўрсатадики, уларнинг сони захарлаш бошланишидан вақт ўтиши билан камаяди. Шундай қилиб, 12 соатдан кейин яшовчан ҳужайралар сони 50% ни ташкил қилади ва коэффитсиент 5,05 ни ташкил қилади, 48 соатдан кейин эса 10-12% ва коэффитсиент 13,2 ни ташкил қилади (3-расм).

Ҳаётий жигар ҳужайралари сонини ҳисоблаш шуни кўрсатадики, уларнинг сони захарлаш бошланишидан вақт ўтиши билан камаяди.

Ушбу ҳайвонларнинг кузатув натижалари шуни кўрсатдики, захарлашдан кейин уларнинг клиник ҳолатининг оғирлиги ўсиб боради. 48 соат ичида ҳайвонларда кучли гиподинамия, қон кетиш, оғриқ сезувчанлигининг пасайиши, кейин ҳайвонларнинг 100% ўлими кузатилди.

### Цит.С / ТМФА оксидаза фаоллиги ва унинг давомийлигига қараб ССЛ4 билан захарланганда яшовчан хужайралар улуши



Расм 7. ССЛ4 билан захарлашдан кейин (12 ва 24 соатдан кейин) ҳаётӣ жигар хужайралари сонини ҳисоблаш ва уларнинг коэффициентси билан нисбати

ССЛ4 билан даволанган каламушларда биз турли хил метаболит ҳолатларда  $O_2$  истеъмол қилиш тезлигидаги ўзгаришларнинг бир хил динамикасини аниқладик.

Ушбу моделнинг галактозаминдан ўзига хос хусусияти цитохром С-оксидазининг кескин фаоллашиши эди (1-жадвал) (интак каламушларда 12 ва 24 соатдан кейин 162,4 ва 136,2% га ошиб кетган). ССЛ4 захарланиши билан гуруҳда, бу орқали аниқланган (расм 4).

Захарлашдан 12 соат ўтгач, коэффициент қиймати 7,2 га, ҳайвонларнинг 50% ўлими кузатилган 24 соатдан кейин эса 10,9 га ошган. Омон қолган каламушларда 36 ва 48 соатдан кейин коэффициент қиймати мос равишда 7,0 ва 6,0 га камайди.

Жигар тўқималарининг морфологик тадқиқотлари шуни кўрсатдики, ССЛ4 билан захарлангандан 12 соат ўтгач (5-расм) некроз, гепатотситларнинг кичик томчили вакуолизатсияси ва бўлақлар атрофи бўйлаб ёғли хужайралар мавжуд.

24 соатда (6-расм) бу ўзгаришлар кучаяди ва энг оғир зарарланиш акс этади: гепатотситлардаги умумий некробиётӣк ўзгаришлар.

36 ва 48 соатларда паренхиманиннг сақлаиб қолган жойларида гепатотситлардаги некробиётӣк ўзгаришлар бироз пасаяди, бу коэффициентнинг пасайишига тўғри келади ва ҳайвонларнинг аҳолида (фаоллик, иштаха, кўринишида.) бироз яхшиланиш кузатилади.

Ҳаётӣ хужайралар сонини ҳисоблаш шуни кўрсатдики (7-расм) захарлашдан 12 соат ўтгач, бузилмаган хужайраларнинг 30% / коэффициентси 7,2 / ва 24 соатдан кейин --- 15% / коэффициентси -10,9 / қолади.

Каламушларнинг клиник ҳолати аста-секин ёмонлашади ва ҳайвонларнинг 50% ўлим қайд этилган 24 соат ичида энг юқори даражага етади. 48-соатга келиб, тирик қолганлар ҳаракатчанликни қисман тиклайди, рефлекслар фаоллашади, иштаха пайдо бўлади, қон кетиши камайди ва ҳаётӣ хужайралар сони ҳам бироз кўпаяди.

Шундай қилиб, ушбу қатор тажрибалар натижалари шуни кўрсатдики, биз қўллаган усул ДЛ-галактозамин ва ССЛ4 захарланишида жигар паренхимасининг шикастланиш даражасини аниқлашга имкон беради. Бундан ташқари, коэффициентнинг энг катта қиймати энг аниқ морфологик ўзгаришларга, тирик хужайралар сонига ва ҳайвонларнинг оғир клиник ҳолатига мос келади.

#### Хулоса:

1. Ушбу тестдан фойдаланиш жигар шикастланиши учун диагностика воситаси бўлиб хизмат қилиши мумкин.
2. Паренхиманиннг сақлаб қолишнинг миқдорӣ аниқлаш имконини беради.
3. Жарроҳлик аралашувининг табиати ва ҳажми ва коррексиянинг терапевтик усуллари нуқтаи назаридан диагностик, терапевтик тактикани танлаш учун зарур шарт-шароитларни яратади.
4. Беморларда ушбу касалликнинг кечиши ва прогнозини қилиш имконияти бўлади.

#### Адабиётлар:

1. Плеханов А.Н., Товаришинов А.И. Современные подходы к диагностике и лечению печёночной недостаточности (Адабиёт шарҳи).

Бюллетень ВСНЦСО РАМН, 2016 йил, 1-жилд, Но 4 (110), п.151-161.

2. Черний В.И., Тюментсева С.Г., Шраменко Э.К. Фульминантная печёночная недостаточность, 2010. - 197 п.

3. Kumarasena RS, Niriella MA, Ranavaka CK (2016). Predicting acute liver failure in dengue infection. *Seylon. Med. J.* 61 (1), 35-36.

4. Mochida S, Takikava Y, Nakayama N (2011). Diagnostic criteria of acute liver failure. *Gepatol. Res.*, 41 (9), 805-812.

5. Isolation of a Bone Marrow-Derived Stem Cell Line with High Proliferation Potential and Its Application for Preventing Acute Fatal Liver Failure / M. Masa-hiro [et al.] // *STEM. CELLS.* - 2007. -Vol. 25. - P. 2855-2863.

6. Уразметова М.Д., Хожибоев Ф.А., Мирзакулов А.Г., Б.Б.Акилов. Методы формирования острой печеночной недостаточности в эксперименте (адабиёт шархи) ЖУРНАЛ ШОШИЛИНЧ ТИББИЙ ЁРДАМ ХАБАРИ. 2018 йил, 11-жилд, 4-сон, 66-71-бетлар.

7. Weber L.W. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model / L.W. Weber, M. Boll, A. Stampfl // *Grit. Rev. Toxicol.* - 2003. - Vol. 33. - P. 5-36.

8. Медведева С.Ю., Сентсов В.Г., Гетте И.Ф., Данилова И.Г. Особенности регуляторных механизмов компенсации диффузного поражения печени при токсическом воздействии четырёххлористого углерода и полигексаметиленгуанидингидрохлорида. 15-жилд, *Клиник токсикология*, 2014 йил 3-май.

9. Трушанов А. А. Изготовление в лабораторных условиях закрытого полярографического электрода Кларка. //В кн. *Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом.* М., Наука, 1973.- С. 78-79.

10. Earl.E.Jacobs.- Phosphorylation coupled to electron transport initiated by substituted phenylenediamines. *Biochem. Biophys. Res.Commun.*3, №5,536-539,1960.

11.Ozawa Kazue/ Adaptive response of the liver

mitochondrial and its relation to hepatic functional reserve. Evaluation by cytochrome a (+ a 3) assay and glucosae intolerance "Asian Med J", 1980,23 №7, P.499-528.

12.Berry M., Friend D. High-yield preparation of isolated parenchimal cells from rat liver // *J. Cell. Biol.*- 1969.- V. 43,- P. 506- 520.

13.Moncevichyute-Ehringene E.V. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // *Патологик физиология ва экспериментал терапия.* - 1964. - Но 4. - С. 71-78.

14.Zaccherini G., Weiss E., Moreau R. Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment. *JHEP Rep.* 2020 Sep 2;3(1):100176.

### **ОЦЕНКА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ**

*Ахмедов М.Дж., Аскарлов Т.А., Файзиев Ё.Н., Ашурметов А.М., Усаров А.М., Долим К.С.*

**Резюме.** Актуальность темы. В настоящее время во всём мире отмечается неуклонный рост числа больных с заболеваниями печени. При этом различная печёночная патология в большинстве случаев сопровождается развитием серьёзных осложнений вплоть до появления печёночной недостаточности. Цель: в данном исследовании показана активность цитохромоксидазы при токсических поражениях паренхимы печени. Выявлено, что при повреждении печени при различных сроках токсического гепатита приводят к ингибированию цитохромоксидазы. Установлен уровень коэффициента соответствующий определённому количеству повреждённой (или сохранной) паренхимы печени. Материалы и методы. Для создания экспериментальной модели гепатоцеллюлярной недостаточности эксперименты были проведены на 110 крысах-самцах линии Вис тар массой 180-220гр. Проведено 3 серий экспериментов. Выводы. Использование данного теста может служить средством диагностики поражения печени.

**Ключевые слова:** острая печеночная недостаточность, паренхима печени, токсическое поражение, ишемия, животные, митохондрия.