

УДК 616.36-002.14: 578.891]-036.12-036.1

ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

А. П. Щёктова, П. В. Улитина, И. А. Булатова, О. Ю. Ненашева*

Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь, Россия

PECULIARITIES OF OXIDATIVE STRESS IN CHRONIC HEPATITIS C

A. P. Schekotova, P. V. Ulitina, I. A. Bulatova, O. Yu. Nenasheva*

Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner, Perm, Russian Federation

Цель. Изучить состояние процессов перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной системы в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С (ХГС) и оценить взаимосвязь этих параметров с нарушением функциональных проб печени.

Материалы и методы. У 46 больных ХГС определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и глутатионредуктазы (ГР), а также аланиновую и аспарагиновую трансаминазы (АЛТ и АСТ), тесты холестаза. Группа контроля состояла из 26 человек, сопоставимых по полу и возрасту.

Результаты. У больных ХГС обнаружено увеличение концентрации МДА по сравнению с группой контроля до $6,26 \pm 3,2$ ($p < 0,001$). Выявлено повышение активности ферментов: СОД (по сравнению с группой контроля) увеличена до $40,39 \pm 12,78$ ($p < 0,001$), а ГР – до $31,66 \pm 9,64$ мкмоль/л/мин ($p < 0,001$). Активность КАТ была достоверно снижена – $9,93 \pm 4,91$ мкат/л ($p < 0,001$). Обнаружены достоверные прямые взаимосвязи уровня МДА с трансаминазами, между ГР и АСТ. Выявлены обратные достоверные взаимосвязи МДА и КАТ ($r = -0,319$, $p = 0,048$). Снижение КАТ коррелировало с увеличением показателей цитолиза – АЛТ и АСТ.

Выводы. У больных ХГС активация перекисного окисления липидов в сыворотке крови взаимосвязана с выраженностью синдрома цитолиза гепатоцитов. При этом окислительный стресс не сопровождается адекватным ростом активности ферментов антиоксидантной системы.

Ключевые слова. Окислительный стресс, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионредуктаза, хронический гепатит С.

Aim. To study the blood serum lipid peroxidation processes and antioxidant enzymes activity in patients with chronic hepatitis C (CHC) and to assess the correlation between these parameters and impairment of functional hepatic tests.

Materials and methods. Malonic dialdehyde concentration (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) activity as well as alanine and asparagine transaminases (ALT and AST), cholestasis tests were determined in 46 patients with CHC. The control group included 26 persons comparable by their sex and age.

Results. Increase in MDA concentration to $6,26 \pm 3,2$ ($p < 0,001$) compared with the control was observed in CHC patients. Raised activity of enzymes was detected: SOD compared to the control group heightened to

© Щёктова А. П., Улитина П. В., Булатова И. А., Ненашева О. Ю., 2013

e-mail: al_shchekotova@mail.ru

тел. 8 (342) 230 22 37

[Щёктова А. П. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС; Улитина П. В. – ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС; Булатова И. А. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС; Ненашева О. Ю. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС].

40,39±12,78 ($p<0,001$), but GR – to 31,66±9,64 mcmol/l/min ($p<0,001$); CAT activity was significantly reduced: 9,93±4,91 mcat/l ($p<0,001$). Direct reliable correlation between MDA level and transaminases, between GR and AST were found. Reverse reliable correlation between MDA and CAT ($r=-0,319$, $p=0,048$) were observed. Decrease in CAT correlated with increase in cytolysis indices – ALT and AST.

Conclusion. Among CHC patients, blood serum lipid peroxidation activation correlates with the degree of manifestation of hepatocyte cytolysis syndrome. At the same time, oxidative stress is not accompanied by an adequate growth of activity of antioxidant enzymes.

Key words. Oxidative stress, malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, chronic hepatitis C.

ВВЕДЕНИЕ

В мире сложилась неблагоприятная эпидемическая ситуация, которая характеризуется высоким ростом заболеваемости хроническим гепатитом С (ХГС) во всех возрастных группах [3]. В настоящее время активно изучаются патологические механизмы, которые лежат в основе быстрого прогрессирования заболевания, определенную роль в этом может играть повышение чувствительности к оксидативному стрессу. Достаточно много работ в научной литературе, которые доказывают значительную роль нарушений процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при таких заболеваниях, как атеросклероз, гипертоническая болезнь и др. При этом выявлена положительная корреляция между активацией ПОЛ, оцениваемой по уровню малонового диальдегида (МДА) и активностью селен-зависимых ферментов антиоксидантной системы (АОС) [9]. Повышение уровня ПОЛ способствует развитию эндотелиальной функции, которая в свою очередь усугубляет поражения печени и способствует прогрессированию фиброза в органе [6]. Отмечено повышение концентрации МДА – конечного продукта ПОЛ у больных как острым, так и хроническим гепатитом, при этом у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В наблюдалось снижение выработки супероксиддисмутазы (СОД), а при остром гепатите – увеличение этого фермента [4]. Снижение глутатионпероксидазы и каталазы (КАТ) выявлено при остром гепа-

тите В, но только в прекоме и коме, что свидетельствует об угнетении АОС на фоне тяжелого течения острого гепатита [5]. У больных токсическими гепатитами наблюдается снижение активности СОД на 27,4% по сравнению с группой контроля [1]. При исследовании биоптатов печени отмечено повышение МДА у больных циррозом печени и при печеночно-клеточном раке, на этом фоне снижена активность глутатионпероксидазы [7]. Другие исследователи находили повышение активности ферментов системы глутатиона в биоптатах печени при гепатите и циррозе [2]. У больных ХГС на фоне противовирусной терапии пегинтроном и рибавирином отмечено снижение исходно повышенного уровня МДА в сыворотке крови и повышение до нормы в эритроцитах СОД, сниженной до лечения, что свидетельствует об уменьшении индуцированного вирусом окислительного стресса [8].

До настоящего времени нет единого мнения о роли окислительного стресса в развитии хронических вирусных заболеваний печени. Поэтому представляет интерес комплексное исследование процессов свободно-радикального окисления при ХГС и состояния АОС для уточнения их значения в патогенезе заболевания.

Цель исследования – изучить состояние процессов ПОЛ по уровню МДА и активность ферментативных антиоксидантов СОД, КАТ и глутатионредуктазы (ГР) в сыворотке крови больных ХГС и оценить взаимосвязь этих параметров с нарушением функциональных проб печени.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ**

Обследовано 46 больных ХГС в фазе реактивации заболевания, средний возраст составил $37,5 \pm 8,6$ г., из них 23 мужчины, 23 женщины. Группа контроля состояла из 26 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. Исследование аланиновой и аспарагиновой трансаминаз (АЛТ, АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и обеих фракций билирубина в сыворотке крови проводилось на автоматизированном биохимическом анализаторе Architect-4000 (США). Концентрацию МДА в сыворотке крови определяли по методу А. Кона и В. Ливерсейджа в модификации Ю. В. Владимирова и А. В. Арчакова (1972). Активность ферментов АОС исследовали спектрофотометрически: СОД в крови изучали методом Н. Misra и J. Fridovich (1983), КАТ – по М. А. Королюк (1988), активность ГР – методом Manso и Wroblewski (1958). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft). Распределения результатов проверяли по критерию Колмогорова–Смирнова. Для описания полученных количественных признаков использовали среднее арифметическое (M) и одно среднее квадратичное стандартное отклонение (σ). Так как распределение показателей отклонялось от нормального, для оценки значимости различий независимых групп применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Количественная оценка линейной связи между двумя независимыми величинами определялась с использованием коэффициента ранговой корреляции по Спирмену (r). Значимость взаимосвязей и различия между выборками считались достоверными при значении для $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке биохимических показателей крови у больных ХГС выявлено повышение активности трансаминаз с достоверным отличием от группы контроля, что свидетельствует о наличии синдрома цитолиза (табл. 1). У ряда больных ферменты были в пределах нормы, в отдельных случаях цитолиз достигал по уровню АЛТ до 247 Ед/л и АСТ до 195 Ед/л. Коэффициент де Ритиса (соотношение АСТ/АЛТ) у больных ХГС был достоверно ниже, чем в группе контроля, что связано также с выраженным цитолизом. У отдельных пациентов отмечен синдром холестаза в виде повышения ЩФ и прямого билирубина, но при этом средние показатели ЩФ и фракций билирубина при ХГС в фазе реактивации заболевания не отличались от таковых в группе контроля.

У больных ХГС отмечена активация ПОЛ, что проявляется в достоверном увеличении концентрации МДА более чем в 4 раза по сравнению с группой контроля. При исследовании

Таблица 1

Биохимические показатели функционального состояния печени, МДА и ферменты АОС у обследованных ($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа ($n=26$)	ХГС ($n=46$)	p
АЛТ, Е/л	$17,0 \pm 8,41$	$91,25 \pm 61,0$	$<0,001$
АСТ, Е/л	$21,19 \pm 6,91$	$56,26 \pm 38,8$	$<0,001$
АСТ/АЛТ	$1,29 \pm 0,35$	$0,66 \pm 0,32$	$<0,001$
ЩФ, Е/л	$61,88 \pm 16,89$	$65,23 \pm 20,09$	0,493
Билирубин общий, мкмоль/л	$9,72 \pm 4,42$	$11,46 \pm 6,04$	0,22
Билирубин прямой, мкмоль/л	$3,48 \pm 1,52$	$4,55 \pm 2,91$	0,148
МДА, мкмоль/л	$1,42 \pm 0,58$	$6,26 \pm 3,2$	$<0,001$
СОД, Е/л	$27,75 \pm 6,19$	$40,39 \pm 12,78$	$<0,001$
КАТ, мкат/л	$27,38 \pm 6,19$	$9,93 \pm 4,91$	$<0,001$
ГР, мкмоль/л/мин	$9,34 \pm 3,57$	$31,66 \pm 9,64$	$<0,001$

Примечание: p – значимость различий в группе контроля и у пациентов с ХГС.

довании ферментов АОС выявлено повышение активности СОД на 46% ($p < 0,001$) и ГР в 3,4 раза ($p < 0,001$). Эти результаты согласуются с данными других исследователей [1, 4]. Увеличение активности этих ферментов можно связать с активацией компенсаторных механизмов, которые направлены на снижение уровня окислительного стресса. При этом соотношение средних показателей СОД и МДА в контрольной группе было 19,5, а у больных ХГС, несмотря на повышение этого фермента, составило 6,5. Аналогичная ситуация наблюдается и в отношении ГР: соотношение фермента с МДА у практически здоровых – 6,6, а при ХГС оно снижено до 5,1. Эти данные свидетельствуют об относительно недостаточном повышении функции СОД и ГР на фоне активации ПОЛ при ХГС. Активность КАТ, напротив, оказалась сниженной в 2,5 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), что может свидетельствовать об истощении выработки этого фермента у больных ХГС. Соотношение средних показателей КАТ и МДА в группе контроля составило 19,8, у больных – 1,6. Интересно, что в сыворотке крови исследованные ферменты демонстрировали разнонаправленные сдвиги: КАТ была снижена, а СОД и ГР – повышены, но в целом эти результаты подтверждают нарушение адекватной функции АОС при ХГС [8].

При проведении корреляционного анализа выявлены достоверные прямые взаимосвязи между МДА и трансаминазами, что указывает на параллелизм активации ПОЛ и тяжести синдрома цитолиза при ХГС (табл. 2).

По мере нарастания интенсивности ПОЛ снижается активность ферментов АОС, что подтверждается обратной взаимосвязью МДА и КАТ ($r = -0,319$, $p = 0,048$). Снижение активности КАТ коррелирует с увеличением показателей цитолиза – АЛТ и АСТ. Достоверная взаимосвязь ГР и АСТ свидетельствует о повышении активности этого фермента АОС на фоне нарастания цитолиза гепатоцитов.

Таблица 2

Взаимосвязи функциональных печеночных проб, МДА и ферментов АОС у больных ХГС ($M \pm \sigma$)

Показатель	ХГС ($n=46$)	
	r	p
МДА и АЛТ	0,328	0,026
МДА и АСТ	0,394	0,007
МДА и КАТ	-0,319	0,048
КАТ и АЛТ	-0,296	0,047
КАТ и АСТ	-0,355	0,026
ГР и АСТ	0,35	0,029
СОД и КАТ	-0,329	0,028

Примечание: r – взаимосвязь показателей в группе больных с ХГС; p – значимость корреляции в группе пациентов с ХГС.

Следовательно, нарастание ПОЛ и нарушение функции АОС обусловлено тяжестью поражения печени. СОД демонстрирует достоверную обратную взаимосвязь с КАТ, что указывает на дисбаланс в регуляции системы антиоксидантной защиты на фоне развития окислительного стресса при ХГС.

Выводы

1. У больных ХГС в фазе реактивации инфекции имеет место активация ПОЛ, проявляющаяся в виде увеличения МДА в сыворотке крови, что взаимосвязано с выраженностью синдрома цитолиза и позволяет судить о тяжести поражения печени.

2. Повышение активности антиоксидантных ферментов – СОД и ГР – является адаптивной реакцией организма, направленной на уменьшение интенсивности окислительного стресса при ХГС, степень повышения коррелирует с интенсивностью цитолиза гепатоцитов.

3. Уменьшение активности КАТ указывает на частичное истощение АОС у больных в фазе реактивации ХГС, при этом активность КАТ снижается по мере нарастания цитолиза и интенсивности ПОЛ.

4. Усиление пероксидации липидов не сопровождается адекватным ростом активности ферментов АОС, что свидетельствует о дисбалансе и в целом о неэффективности антиоксидантной защиты на фоне окислительного стресса при ХГС.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Емельянов Д.Н., Свириденко О.Ю., Стаценко И.Ю. Состояние перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты у больных токсическими гепатитами. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2007; 17 (1): 64–65.
2. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Активность глутатионовых ферментов в биоптате печени при хронических повреждениях гепатоцитов. Клиническая лабораторная диагностика 1998; 4: 8–16.
3. Калинина О.В., Мукомолов С.А. Молекулярная эпидемиология гепатита С. Вирусные гепатиты: достижения и перспективы 2000; 3 (10): 9–15.
4. Окорокова Л.П., Огородова Л.М., Капилевич Л.В. Этанол- и альдегидметаболизирующие системы и антиоксидантная защита при вирусных гепатитах. Наука о человеке: сб. статей по материалам пятого конгресса молодых ученых и специалистов / Якутский научный центр РАМАН. Якутск 2004; 413.
5. Пак С.Г., Никитин Е.В. Статус процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы у больных с тяжелым течением гепатита В. Клиническая медицина 1991; 69 (9): 7–54.
6. Щекотова А.П. Состояние эндотелия при хронических диффузных заболеваниях печени. Пермский медицинский журнал 2009; 26 (2): 78–82.
7. Czczot H, Cibior D, Skrzycki M, Podsiad M. Glutathione and GSH-dependent enzymes in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Acta Biochimica Polonica 2006; 53 (1): 237–241.
8. Levent G, Ali A, Ahmet A, Polat E. C., Aytac Ç., Ayşe E., Ahmet S. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy. Journal of Translational Medicine 2006, 4: 25, available at: <http://www.translational-medicine.com/content/4/1/25>.
9. Mezzetti A, Lapenna D, Calafiore A. M., Protti-Franceschilli G, Porreca E., De Cesare D., Neri M., Di Ilio C., Cuccurollo F. Glutathione-related enzyme activities and lipoperoxide levels in human internal mammary artery and ascending aorta. Relations with serum lipids. Atheroscler. Thromb. Jan. 1992; 12 (1): 8–92.

Материал поступил в редакцию 06.12.2013