

Т. В. Чабан[©]

**ВПЛИВ АКТИВНОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ НА
СТАН СИСТЕМИ ІНТЕРФЕРОНУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ
ГЕПАТИТ С**

Одеський державний медичний університет

РЕФЕРАТ. Проникнення HCV до організму хворих сприяє індукції реакцій ПОЛ в клітинах, що призводить до надлишкового радикалоутворення та порушення перебігу основних внутрішньоклітинних процесів, в тому числі тих, які відповідають за продукцію IFN. хворих на ХГС активація процесів ПОЛ супроводжувалася прогресуючою недостатністю в системі інтерферону, ступінь вираженості якої збільшувався у міру підвищення активності гепатиту, що свідчить про зниження внутрішньоклітинної їх спроможності до інтерфероноутворення та поглиблення патологічного процесу в печінці.

Ключові слова: хронічний гепатит С, пероксидація ліпідів, інтерфероногенез

SUMMARY. Y.V. Chaban. **Influence of metabolic violations' state of interferon system in the patients with chronic hepatitis C.** 120 patients with different activity of chronic hepatitis C have been examined. They have studied the state of lipid peroxidation and interferonogenesis. The relation of peroxidation activity and interferon system changes have been revealed. The violations revealed may be possible reasons of hepatocytes destruction.

Key words: chronic hepatitis C, lipid peroxidation, interferonogenesis

РЕФЕРАТ. Чабан Т.В. **Влияние активности метаболических нарушений на состоянии системы интерферона у больных хроническим гепатитом С.** Исследовали 120 пациентов с хроническим гепатитом С. Было изучено состояние ПОЛ и интерфероногенеза и установлена связь между уровнем активности ПОЛ и изменениями в системе интерферона. Вероятно, подобного рода нарушения являются причиной деструкции гепатоцитов.

Ключевые слова: хронический гепатит С, перекисное окисление липидов, интерферон.

Незважаючи на зусилля вчених, сьогодні не існує єдиної концепції в поглядах на патогенез хронічного гепатиту С (ХГС), зокрема механізм апоптозу гепатоцитів. Останнім часом пильна увага дослідників приділяється вивченню ролі процесів перекислого окислення ліпідів (ПОЛ) в механізмах пошкодження клітинних мембран, тканинної дегенерації та запалення. Дія цих реакцій в фізіологічних умовах спрямована на регуляцію фосфоліпідного складу біомембран, метаболізм та функціональну активність клітин [1, 2, 3].

Руйнування клітин внаслідок дії вільних радикалів, якщо їх не нейтралізувати, може призвести до розвитку гострих та хронічних захворювань. Імунний захист організму також забезпечує нейтралізацію та виділення з організму різних речовин, як чужорідних ксенобіотиків, так й ендогенних токсичних сполук. При цьому, функціональні можливості імунокомпетентних клітин визначаються їх внутрішньоклітинними метаболічними процесами, серед яких ключову роль грають процеси вільно-радикального окислення (ВРО) та утворення активних форм кисню [2, 4, 5].

Питанням ролі реакцій ПОЛ та порушенню їх перебігу при ХГС

присвячено лише окремі дослідження. До того ж, не наведено результатів активності ПОЛ у хворих із різним ступенем активності патологічного процесу в печінці; не представлено чітких даних про взаємозв'язок ВРО та стану імунної системи у таких хворих [4, 6, 7].

Дія системи інтерферону спрямована на розпізнавання, знищення та елімінацію чужорідної інформації. Важливим моментом в роботі цієї системи є швидкість включання в активний протівірусний захист (через декілька годин після зараження). Порушення будь-якого з механізмів протівірусного захисту призводить до дефектного функціонування системи інтерферону і проявляється неможливістю реалізації її чисельних ефектів та порушенням міжклітинних взаємодій [8, 9, 10].

Вивчення означених процесів дозволить, на наш погляд, глибше розкрити основні ланки патогенезу ХГС, розробити алгоритм прогнозування перебігу хвороби, вдосконалити існуючі методи лікування хворих.

Мета роботи: дослідити активність реакцій ПОЛ та стан системи інтерферону у хворих на ХГС із різним ступенем активності гепатиту.

Матеріали і методи.

Обстежено 120 хворих на ХГС: 30 хворих (I група) з мінімальною активністю гепатиту, 30 хворих (II група) із слабкою активністю гепатиту, 30 хворих (III група) з помірною активністю гепатиту та 30 хворих (IV група) з вираженою активністю гепатиту. Групи обстежених були рандомізовані за віком, статтю, тривалістю інфекційного процесу.

Контрольну групу склали 30 практично здорових людей.

Всі обстежені проходили загальноклінічні, біохімічні, вірусологічні дослідження. Активність гепатиту визначали згідно рекомендацій Міжнародного конгресу гастроентерологів (Лос-Анджелес, 1994). Розміри та стан печінки та селезінки контролювали за допомогою ультразвукового обстеження органів черевної порожнини.

В сироватці крові та еритроцитах хворих і практично здорових людей визначали концентрацію продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА). Для вивчення вмісту ДК використовували метод, запропонований І.Д. Стальною. Принцип цього метода заснований на тому, що стадія утворення вільних радикалів в молекулах поліненасичених жирних кислот супроводжується системою спряжених подвійних зв'язків. В наслідок цього виникає новий максимум в спектрі поглинання 233 нм.

Кількість МДА досліджували за методом І.Д. Стальної та Т.Г. Гаришвілі, який базується на тому, що при умовах високої температури в кислому середовищі МДА реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою. В результаті цієї реакції утворюється пофарбований триметіновий комплекс з максимумом поглинання 532 нм.

З метою кількісного вивчення інтерферонів використовували проточну лазерну цитометрію із застосуванням парамагнітних часток. Метод ґрунтується на поетапному зв'язуванні молекули певного цитокіну з двома типами моноклональних антитіл. Дослідження здійснювали на проточному лазерному цитофлюорометрі FACS Calibrium™ System (виробник Vectom Dickinson), користуючись тест-системами виробника.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на PC Pentium III 500 за допомогою програми Statistica+ for Windows.

Результати та їхнє обговорення.

В результаті проведених досліджень встановлено, що активація процесів ПОЛ відбувається у всіх хворих на ХГС. Як видно з таблиці 1, збільшення концентрації ДК в крові хворих на ХГС відбувалося разом із зростанням активності гепатиту. Так, у хворих I групи зафіксовано підвищення концентрації ДК в сироватці крові в 1,1 разів, в еритроцитах – в 1,2 рази; у

хворих II групи: в 1,2 рази - в сироватці крові, в 1,4 разів - в еритроцитах; у хворих III групи: в 1,5 рази в сироватці крові, в 1,7 разів - в еритроцитах в порівнянні із здоровими обстеженими. Найбільш висока концентрація ДК (підвищення в 1,7 разів в сироватці крові та, майже, вдвічі - в еритроцитах) спостерігалася в групі хворих, де встановлено виражену активність гепатиту.

Таблиця 1

Концентрація ДК та МДА в сироватці крові та еритроцитах хворих на ХГС в залежності від активності гепатиту ($M \pm m$)

Показники	ДК		МДА	
	сироватка крові, нмоль/л сироватки	еритроцити, нмоль/л за висі еритроцитів	сироватка крові, нмоль/л сироватки	еритроцити, нмоль/л за висі еритроцитів
Хворі з мінімальною активністю гепатиту (n=30)	12,46 ± 0,412*	8,97 ± 0,396*	359,14 ± 10,236*	191,06 ± 8,891*
Хворі із слабо вираженою активністю гепатиту (n=30)	14,04 ± 0,358*	10,17 ± 0,245*	404,31 ± 7,825*	225,14 ± 7,138*
Хворі з помірно вираженою активністю гепатиту (n=30)	17,19 ± 0,479*	12,25 ± 1,372*	428,47 ± 12,641*	274,35 ± 7,289*
Хворі із вираженою активністю гепатиту (n=30)	19,63 ± 0,479*	14,31 ± 0,894*	483,19 ± 13,574*	310,73 ± 9,456*
Практично здорові (n=30)	11,37 ± 0,523	7,24 ± 0,145	257,3 ± 5,831	143,61 ± 4,213

Примітка. * – вірогідна різниця в порівнянні з показниками здорових осіб ($p < 0,05$).

Проведення статистичного аналізу показало наявність прямого кореляційного зв'язку між концентрацією ДК в сироватці крові хворих на ХГС та активністю ферменту АлАТ ($r = 1,003$). Кореляційний зв'язок розцінено, як функціональний.

В сироватці крові та еритроцитах обстежених хворих встановлено підвищення вмісту кінцевого продукту ПОЛ - МДА (див. табл. 1). Тенденція до підвищення концентрації МДА була аналогічною динаміці концентрації ДК. Так, найбільш високі цифри вмісту МДА зафіксовано у хворих з вираженою активністю гепатиту (підвищення концентрації МДА в 1,8 разів в сироватці крові та в 2,1 рази в еритроцитах), найменші - у хворих з мінімальною активністю гепатиту (збільшення кількості МДА в 1,4 рази в сироватці крові та в 1,4 рази в еритроцитах).

При обчислюванні коефіцієнту кореляції встановлено прямий кореляційний зв'язок концентрації МДА в сироватці крові обстежених та активності АлАТ. Коефіцієнт кореляції в даному випадку дорівнювався 0,923, що свідчить про виражену силу зв'язку.

Таким чином, найбільш висока концентрація продуктів ПОЛ спостерігалася у хворих з більш вираженим патологічним процесом в печінці (IV група спостереження, пацієнти, у яких зареєстровано підвищення активності АлАТ більш, ніж в 10 разів). Такі хворі найбільш часто відмічали диспепсичні розлади, зниження працездатності, тяжкість в правому підребер'ї. При біохімічному дослідженні сироватки крові виявляли високу активність амінотрансфераз, у 15 хворих - підвищення концентрації загального білірубину, у 22 хворих – зниження кількості загального білка. Лабораторні дані супроводжувалися також результатами об'єктивного обстеження: у 12 хворих при проведенні пальпації живота встановлено збільшення розмірів печінки, у 18 хворих - збільшення розмірів печінки та селезінки.

Встановлений прямий кореляційний зв'язок між концентрацією продуктів ПОЛ та активністю АлАТ, який характеризує процеси порушення в фосфоліпідній фракції біомембран гепатоцитів, пов'язаний, на наш погляд, з активацією ПОЛ, що свідчить про участь пероксидації в деструкції печінкових клітин.

Інтерфероновий статус також досліджували у 120 хворих на ХГС з різним ступенем активності гепатиту. Отримані результати представлені в таблиці 2. Наведені дані свідчать про дефектність інтерферогенезу у всіх обстежених хворих. Однак, якщо у пацієнтів з мінімальною та слабо вираженою активністю гепатиту виявлено помірні порушення з боку цих показників, то у хворих з помірно вираженою та вираженою активністю гепатиту мали місце більш суттєві порушення інтерферогенезу.

Таблиця 2

Вміст сироваткового IFN, здатність лімфоцитів до продукції IFN- α та IFN- γ у хворих на ХГС в залежності від активності гепатиту ($M \pm m$)

Показники Групи спостереження	сироватковий IFN, од/мл	IFN- α , пг/мл	IFN- γ , пг/мл
Хворі з мінімальною активністю гепатиту (n=30)	2,25 \pm 1,047	15,46 \pm 2,725*	14,89 \pm 1,526*
Хворі із слабою активністю гепатиту (n=30)	2,31 \pm 1,081	11,37 \pm 1,104*	9,88 \pm 1,247*
Хворі з помірною активністю гепатиту (n=30)	1,98 \pm 0,726	8,07 \pm 0,435*	6,96 \pm 0,893*
Хворі із вираженою активністю гепатиту (n=30)	1,68 \pm 0,485	4,65 \pm 0,668*	3,82 \pm 0,159*
Практично здорові (n=30)	2,1 \pm 1,035	23,19 \pm 3,624	19,74 \pm 2,359

Примітка. * – вірогідна різниця в порівнянні з показниками здорових осіб ($p < 0,05$).

Дослідження вмісту циркулюючого інтерферону (IFN) показало, що у більшій частини пацієнтів (79) отримані дані не мали суттєвої відмінності від показника здорових обстежених ($p > 0,05$). У 8 пацієнтів титр сироваткового IFN переважав 16 Од/мл, у 13 – не перевищував 1 Од/мл.

У всіх обстежених відбувалося зниження здатності лімфоцитів до продукції IFN- α та IFN- γ в порівнянні з практично здоровими. Співставлення отриманих результатів показало, що зменшення вмісту IFN- α перебігало разом із активацією запального процесу в печінці хворих. Так, у пацієнтів з

мінімальною активністю гепатиту спостерігалось зниження IFN- α в 1,5 рази в порівнянні із здоровими обстеженими; у пацієнтів із слабкою активністю – в 2,04 разів; з помірною – в 2,9 разів; вираженою – майже в 5 разів.

Динаміка IFN- γ характеризувалася поступовим зменшенням кількості цього цитокіну у міру прогресування активності гепатиту. Але, зниження вмісту IFN- γ відбувалося більш прогресивно, ніж IFN- α : в 1,3 разів цей показник знижувався в I групі обстежених, в 2 рази – в II групі обстежених в 2,8 разів – в III групі обстежених та в 5,8 разів – в IV групі обстежених.

Зміни в системі IFN корелювали із змінами, які відбувалися з боку процесів ПОЛ. Так, встановлено зворотний кореляційний зв'язок між вмістом ДК в сироватці крові та продукцією IFN- α ($r = -0,983$), ДК та IFN- γ ($r = -0,973$); концентрацією МДА та IFN- α ($r = -0,903$), МДА та IFN- γ ($r = -0,863$). Тобто, активація перебігу реакцій ПОЛ та накопичення активних радикалів супроводжується зростаючою недостатністю в системі інтерферону.

Таким чином, у хворих на ХГС встановлено суттєві порушення в системі інтерферону. Основні зсуви відбувалися з боку продукції IFN- α та IFN- γ , що свідчить про зниження інтерферонпродукуючої спроможності клітин при хронічній HCV-інфекції.

Висновки.

1. Проникнення HCV до організму хворих сприяє індукції реакцій ПОЛ в клітинах, що призводить до надлишкового радикалоутворення та призводить до порушення перебігу основних внутрішньоклітинних процесів, в тому числі тих, які відповідають за продукцію IFN.

2. У хворих на ХГС активація процесів ПОЛ супроводжувалася прогресуючою недостатністю в системі інтерферону, ступінь вираженості якої збільшувався у міру підвищення активності гепатиту, що свідчить про зниження внутрішньоклітинної їх спроможності до інтерфероноутворення та поглиблення патологічного процесу в печінці.

Література

1. Галицький В.А. Апоптоз гепатоцитів і патогенез вірусних гепатитів та їх окремих ускладнень / В кн.: Вирусные гепатиты с парентеральным механизмом передачи возбудителей и их исходы. – Киев, 2001. – С. 93-97.
2. Громашевская Л.Л., Пинский Л.Л. Нарушение метаболических процессов во внеклеточном матриксе, их регуляции при развитии фиброза печени: маркеры его в сыворотке больных хроническим гепатитом С // Лабор. диагностика. – 2004. - № 4. - С. 3-10.
3. Дмитриева Е.В., Москалева Е.Ю., Северин Е.С. Роль апоптоза в патогенезе хронических вирусных гепатитов В и С // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2003. - № 5. – С. 7-13.
4. Тутельян А.В. Разработка системы оценки иммунотропных препаратов природного и синтетического происхождения на основе анализа взаимосвязи иммунной и антиоксидантной защиты // Аллергология и иммунология. – 2004. – Т.5, № 2. – С.289-299.
5. Romero F.J., Bosch-Morell F., Romero M.J. et al. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease // Environ. Health Perspect. – 1998. – Vol. 106 (Suppl. 5). – P. 1229-1234.
6. Невзорова Т.Г., Сологуб Т.В., Кулбужева М.И., Татарова Н.А. Особенности клинического течения хронической формы HCV-инфекции и состояние антиоксидантной защиты у беременных // VI Всероссийский съезд инфекционистов. Материалы съезда. С-Петербург, 2003. – С. 270-271.
7. Par A., Roth E., Rumi G. et al. Oxidative stress and antioxidant defense in

- alcoholic liver disease and chronic hepatitis C // Orv. Hetil. – 2000. – Vol. 23. – P. 1655-1659.
8. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 368 с.
 9. Спивак Н.Я., Лазаренко Л.Н., Михайленко О.Н. Интерферон и система мононуклеарных фагоцитов. Киев: Фитосоциоцентр, 2002. – 164 с.
 10. Oppenheim J., Feidman M. (Eds.) Cytokine Reference. – Academic Press, London, 2000. – 2015 p.p.