

УДК 575.191:616.36-002:616.9-036.2:616-071:616

## ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Проф. Л. В. МОРОЗ, Е. Ф. ШКОНДИНА, докт. мед. наук В. М. ДУДНИК, С. М. КУЛЯС

### OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

L. V. MOROZ, E. F. SHKONDINA, V. M. DUDNIK, S. M. KULIAS

*Винницкий национальный медицинский университет им. М. И. Пирогова*

**Рассмотрены механизмы оксидативного стресса у больных хроническим гепатитом С. Определены маркеры высокой активности заболевания.**

*Ключевые слова: хронический гепатит С, селен, глутатионпероксидаза.*

**The mechanisms of oxidative stress in patients with chronic hepatitis C are discussed. The markers of a high disease activity were determined.**

*Key words: chronic hepatitis C, selenium, glutathione peroxidase.*

В последние годы активно изучается роль оксидативного стресса в поражении печени. Накоплен значительный фактический материал взаимосвязи оксидативного стресса, продукции цитокинов и фиброгенеза, однотипных для всех заболеваний печени [1–3]. Механизм стресса при хроническом гепатите С (ХГС) в первую очередь связан с иммунным ответом на присутствие вируса иммунокомпетентных клеток, которые распознают вирусные антигены и продуцируют активные формы кислорода. Постоянное образование реактивных форм кислорода во время транспортирования электронов в митохондриальной цепи требует функционирования антиоксидантных механизмов, предупреждающих поражение клеточных структур [4, 5].

По сути оксидативный стресс представляет собой нарушение баланса между прооксидантными и антиоксидантными механизмами [6, 7]. Среди антиоксидантных ферментных систем организма ведущее место занимает глутатионпероксидаза (ГПО). В качестве кофактора ГПО селен принимает участие в детоксикации перекиси водорода и гидроперекисей ненасыщенных жирных кис-

лот, что предупреждает их распад и образование чрезвычайно реактивноспособного гидроксильного радикала [8]. Отсюда понятен интерес исследователей к антиоксидантным свойствам селена, который входит в активный центр ГПО.

Целью нашего исследования было определение диагностической ценности отдельных показателей оксидативного стресса у больных ХГС с различными генотипами вируса.

Был обследован 221 больной ХГС — основная группа обследованных. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц. По возрастной и половой принадлежности группы были подобными. Анализировали амбулаторные карты и истории болезни пациентов с ХГС. Оценку особенностей течения гепатита проводили у больных, которые предварительно не получали противовирусной терапии. Все обследованные были жителями Подольского региона и находились под наблюдением в Винницком гепатологическом центре на протяжении 2002–2007 г. Диагноз ХГС был подтвержден выявлением в крови обследованных суммарных anti-HCV на протяжении 6 мес, ПЦР с определением наличия HCV-RNA и гено-

типа вируса. Среди обследованных преобладали мужчины — 134 человек (60,6%), средний возраст которых был равен  $34,3 \pm 0,65$  года.

Оценка синдрома цитолиза включала определение активности трансаминаз АЛТ, АСТ и ЛДГ унифицированными методами Райтмана — Френкеля. Уровень селена определяли кинетическим методом по способности катализировать окисление комплексоната железа нитратом натрия [9]. Активность глутатионпероксидазы оценивали по скорости окисления восстановленного глутатиона [10].

Пункционная чрезкожная биопсия печени с морфологическим исследованием пунктата была произведена 54 больным. Морфологические изменения структуры печени оценивались по шкале METAVIR, которая учитывает тяжесть воспалительного и фибротического компонентов.

Полученные данные позволили установить, что при ХГС достоверно уменьшается содержание селена (на 31%) и активности глутатионпероксидазы (на 39%) у больных с 1-м генотипом вируса по сравнению со здоровыми людьми (табл. 1).

В то же время у больных со 2-м генотипом уровень селена и активность фермента снизились на 25 и 30% соответственно, а у пациентов с 3-м генотипом — только на 20 и 21%.

У больных ХГС при повышенной активности трансаминаз имело место значительное истощение селеновой антиоксидантной системы (табл. 2).

Содержание селена в сыворотке крови пациентов снижалось на 27%, а активность эритроцитарной ГПО — на 33%. Однако и при нормальной активности трансаминаз гепатит проявлялся достоверным снижением уровня селена (на 18%) и активности ГПО (на 20%).

Полученные данные свидетельствуют о зависимости частоты отклонений показателей оксидативного стресса от референтного интервала и генотипа вируса. Так, уровень селена менее 50 мкг/л и активность ГПО менее 500 мкмоль/мин чаще были выявлены у пациентов с 1-м генотипом — 92 и 89% соответственно. Таким образом, больные с дефицитом селена (снижением уровня селена и падением активности ГПО) накапливались в группах с 1-м генотипом вируса и группах с высокой активностью трансаминаз (табл. 3).

Установлена определенная зависимость между длительностью ХГС и изменением показателей оксидативного стресса (табл. 4). Длительное течение заболевания сопровождалось истощением селенозависимой антиоксидантной системы. Так, уровень селена и активность ГПО у пациентов с длительностью ХГС более 4 лет были на 11 и 25% меньше, чем у больных с длительностью гепатита менее 2 лет.

Активные формы кислорода играют важную роль в физиологических процессах и тесно связаны с множеством патологических изменений в организме. В биоптатах печени больных ХГС зафиксировано значительное ускорение образования активных молекул и радикалов кислорода [5, 11]. Определение содержания отдельных показателей оксидативного стресса у больных ХГС в соответствии с индексом гистологической активности (ИГА) гепатита позволили получить данные, представленные в табл. 5.

На фоне активации процессов пероксидации у пациентов происходило истощение антиоксидантной системы. В зависимости от тяжести морфологических проявлений гепатита достоверно

Таблица 1

**Распределение больных ХГС с различными генотипами вируса по содержанию в сыворотке крови селена и ГПО ( $M \pm m$ )**

Показатели в сыворотке крови	Здоровые лица, $n = 30$	Больные с генотипом вируса		
		1-м, $n = 122$	2-м, $n = 24$	3-м, $n = 65$
Селен, мкг/л	$63,0 \pm 2,31$	$43,7 \pm 0,64^*$	$47,2 \pm 0,54^*$	$50,2 \pm 0,65^{**}$
ГПО, мкмоль/мин/г гемоглобина	$680 \pm 28$	$413 \pm 11^*$	$477 \pm 11^*$	$534 \pm 15^{**}$

Примечание.  $p < 0,05$ , \* — по сравнению с контролем, \*\* — по сравнению с больными с 1-м генотипом вируса.

Таблица 2

**Показатели оксидативного стресса у больных с нормальной и повышенной активностью трансаминаз ( $M \pm m$ )**

Показатели в сыворотке крови	Здоровые лица, $n = 30$	Все больные, $n = 211$	Активность трансаминаз	
			высокая, $n = 138$	нормальная, $n = 73$
Селен, мкг/л	$63,0 \pm 2,31$	$47,2 \pm 0,54^*$	$45,7 \pm 0,58^*$	$51,8 \pm 0,84^{**}$
ГПО, мкмоль/мин/г гемоглобина	$680 \pm 28$	$477 \pm 11^*$	$457 \pm 13^*$	$543 \pm 18^{**}$

Примечание.  $p < 0,05$ , \* — по сравнению с контролем, \*\* — между группами больных с высокой и нормальной активностью трансаминаз.

снижались концентрация селена и активность ГПО. Уже у пациентов с ИГА А2 по сравнению с больными с ИГА А1 отмечалось достоверное снижение содержания селена, и дефицит селена усугублялся у больных с более тяжелой морфологической картиной гепатита. Активность ГПО

статистически достоверно отличалась у пациентов с ИГА А3. Наростание фибротических изменений в печени шло параллельно истощению селеновой антиоксидантной системы (табл. 6). По сравнению с пациентами с минимальными фибротическими изменениями (F1) в печени содержание селена

Таблица 3

**Частота отклонений от референтного интервала контроля показателей оксидативного стресса**

Показатели	Генотипы вируса						Активность трансаминаз			
	1-й, $n = 122$		2-й, $n = 24$		3-й, $n = 65$		высокая, $n = 138$		нормальная, $n = 73$	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Селен < 50 мкг/л	112	92	16	68	31	48*	106	77	28	38*
ГПО < 500 мкмоль/мин/г гемоглобина	102	84	15	64	30	46*	101	73	25	34*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  между группами больных с 1-м и 3-м генотипами, вируса с высокой и низкой активностью трансаминаз.

Таблица 4

**Показатели оксидативного стресса при различной длительности ХГС ( $M \pm m$ )**

Показатели	Здоровые лица, $n = 30$	Длительность гепатита		
		1 год, $n = 39$	2–4 года, $n = 23$	более 4-х лет, $n = 29$
Селен, мкг/л	63,0±2,31	48,5±0,81	46,2±1,06	43,1±1,09**
ГПО, мкмоль/мин/г гемоглобина	680±28	533±21	449±18*	400±23*

Примечание.  $p < 0,05$ , по сравнению с больными, \* – с длительностью гепатита 1 год; \*\* – с длительностью гепатита 2–4 года.

Таблица 5

**Показатели оксидативного стресса у больных по индексу гистологической активности ( $M \pm m$ )**

Показатели в сыворотке крови	Здоровые лица, $n = 16$	ИГА, баллы		
		A1, $n = 14$	A2, $n = 21$	A3, $n = 9$
Селен, мкг/л	63,0±2,31	48,2±1,36	44,0±0,63*	38,5±1,09*
ГПО, мкмоль/мин/г гемоглобина	680±28	534±37	452±14	371±19*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с больными с ИГА А1.

Таблица 6

**Показатели оксидативного стресса у больных с различной степенью фиброза печени ( $M \pm m$ )**

Показатели в сыворотке крови	Здоровые лица, $n = 16$	Степень фиброза		
		F1, $n = 22$	F2, $n = 20$	F3, $n = 12$
Селен, мкг/л	63,0±2,31	46,3±1,03	44,1±1,02	39,4±0,81**
ГПО, мкмоль/мин/г гемоглобина	680±28	499±25	447±17*	392±17**

Примечание.  $p < 0,05$  по сравнению с больными \* – с F1, \*\* – с F2.

в плазме крови у пациентов с выраженным фиброзом печени (F3) снижалось на 15%, а активность эритроцитарной ГПО — на 21%. Между группами пациентов со степенью фиброза F1 и F2 достоверное различие было отмечено только относительно активности ГПО, а отличия в концентрации селена фиксировались лишь на уровне тенденции.

Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод, что ХГС у больных с 1-м генотипом вируса и высокой активностью трансаминаз в сыворотке крови сопровождается

истощением системы антиоксидантной защиты, о чем свидетельствуют снижение уровня селена (< 50 мкг/л) и активности селеносодержащей ГПО (< 500 мкмоль/мин) в плазме крови.

Учитывая возможность истощения системы антиоксидантной защиты в большей степени у больных с 1-м генотипом вируса, маркерами высокой активности ХГС следует считать снижение уровня селена (< 50 мкг/л) и активности селеносодержащей ГПО в эритроцитах периферической крови (< 500 мкмоль/мин).

#### Литература

1. Антиоксидантная активность гепатотропных препаратов при лечении хронических болезней печени / А. С. Логинов, Б. Н. Матюшин, Г. В. Сухарева, В. Д. Ткачев // Тер. архив.— 1998.— Т. 60, № 8.— С. 74–77.
2. Буеверов А. О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 2002.— Т. 12, № 4.— С. 21–26.
3. Berkson B. M. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Combination of alfalipoic acid (thioctic acid), silymarin and selenium: three case histories // Med. Klin.— 1999.— Vol. 15 (3).— P. 84–89.
4. Зимин Ю. В., Сяткин С. П., Березов Т. Т. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопр. мед. химии.— 2001.— Т. 47, № 3.— С. 346–352.
5. Karlowitz N. Mechanisms of liver cell injury // J. Hepatol.— 2000.— Vol. 32, Suppl. 1.— P. 39–47.
6. Климкина Е. И., Новиков В. Е., Ковалева Л. А. Экспериментальное изучение гепатопротекторных свойств антиоксидантов // Методология и медико-психологические аспекты здорового образа жизни.— Смоленск: Универсум, 2004.— С. 34–38.
7. Логинов А. С., Матюшин Б. Н., Якимчук Г. Н. Эффективность фармакотерапии у больных с хронической патологией печени и состояние ферментов антиоксидантной защиты // Тер. архив.— 1995.— Т. 67, № 2.— С. 3–6.
8. Шарипов К. О. Роль органических производных селена в регуляции антиокислительных процессов в печени при экспериментальном токсическом гепатите // Вопр. биол. мед. и фарм. химии.— 2002.— № 3.— С. 41–44.
9. Кинетический метод определения селена в биологическом материале / О. А. Ефременко, И. И. Краснюк, Б. А. Руденко и др. // Журн. аналит. химии.— 1985.— Т. 15, № 11.— С. 2012–2016.
10. Моин В. М. Простой метод определения активности глутатион-пероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело.— 1986.— № 12.— С. 724–727.
11. Measurement of oxidative stress in human liver by EPR spin-probe technique / L. Valgimigli, M. Valgimigli, S. Gaiani et al. // Free Radic. Res.— 2000.— Vol. 33 (2).— P. 167–178.

Поступила 10.12.2008