

УДК 616.36-002.2-092

ЗАКОНОМІРНОСТІ ПОРУШЕННЯ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯК МЕХАНІЗМ УШКОДЖЕННЯ КЛІТИН У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ С

Д-р мед. наук І. Ю. Багмут, С. М. Граматюк

Харківська медична академія післядипломної освіти

Для розширення розуміння глибоких патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації у пацієнтів із хронічним перебігом гепатиту С визначено закономірності порушення енергозабезпечення.

Під час глибокого дослідження біоенергетичних процесів у клітині проаналізовано співвідношення NAD^+ і NADH_2 як регуляторів функції дихального ланцюга мітохондрій. У всіх групах хворих спостерігалось достовірне ($p \leq 0,05$) зменшення показників NADH_2 . Концентрація NAD^+ ($0,494 \pm 0,03$ ммоль/л) була вірогідно ($p < 0,05$) вища за норму в усіх групах хворих. У пацієнтів усіх груп показники лактату перевищували показники контрольної групи та становили $2,12 \pm 0,23$ ммоль/л за контрольних значень $1,56 \pm 0,235$ ммоль/л. Показники пірувату сироватки крові були значно нижчі, ніж у контрольній групі ($0,056 \pm 0,011$ ммоль/л) і складали $0,0174 \pm 0,01$ ммоль/л, відповідно.

Збільшення вмісту концентрації лактату та зсув у співвідношенні ферментів тканинного дихання є патогенетичними ланками ушкодження клітин у хворих на хронічний вірусний гепатит.

Ключові слова: хронічний гепатит С, енергозабезпечення клітин, патогенетичний механізм ендогенної інтоксикації.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЯ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ КАК МЕХАНИЗМ ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С

Д-р мед. наук И. Ю. Багмут, С. М. Граматюк

Для расширения понимания глубинных патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у пациентов с хроническим течением гепатита С определены закономерности нарушения клеточного энергообеспечения.

При глубоком изучении биоэнергетических процессов в клетке проанализировано соотношение NAD^+ и NADH_2 как регуляторов функции дыхательной цепи митохондрий. Во всех группах больных наблюдалось достоверное ($p \leq 0,05$) уменьшение показателей NADH_2 . Концентрация NAD^+ ($0,494 \pm 0,03$ ммоль/л) была достоверно ($p < 0,05$) выше нормы во всех группах больных. У пациентов всех групп показатели лактата превышали показатели контрольной группы и составляли $2,12 \pm 0,23$ ммоль/л при контрольных значениях $1,56 \pm 0,235$ ммоль/л. Показатели пирувата сыворотки крови были значительно ниже, чем в контрольной группе ($0,056 \pm 0,011$ ммоль/л) и составляли $0,0174 \pm 0,01$ ммоль/л, соответственно.

Увеличение содержания концентрации лактата и сдвиг в соотношении ферментов тканевого дыхания являются патогенетическими звеньями повреждения клеток у больных хроническим вирусным гепатитом.

Ключевые слова: хронический гепатит С, энергообеспечение клеток, патогенетический механизм эндогенной интоксикации.

REGULARITIES OF BIOENERGY VIOLATION AS THE MECHANISM OF DAMAGE OF CELLS IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

I. Y. Bagmut, S. M. Gramatiuk

In order to broaden the understanding of endogenous pathogenetic mechanisms of endogenous intoxication in patients with chronic hepatitis C, patterns of energy supply disturbance have been identified.

In a deep study of bioenergetic processes in the cell, the ratio of NAD^+ and NADH_2 as the regulators of the respiratory chain function of the mitochondria was analyzed. In all groups of patients there was a significant ($p \leq 0,05$) decrease in NADH_2 indices. The concentration of NAD^+ ($0,494 \pm 0,03$ mmol/l) was significantly ($p < 0,05$) higher than normal in all groups of patients. In patients of all groups, the values of lactate exceeded the control group and were ($2,12 \pm 0,23$ mmol/l) at the control values ($1,56 \pm 0,235$ mmol/l). Indicators of blood serum pyruvate were significantly lower than in the control group ($0,056 \pm 0,011$ mmol/l) and accounted for ($0,0174 \pm 0,01$ mmol/l), respectively.

An increase in the content of lactate concentration, and a shift in the ratio of tissue enzymes is a pathogenetic link of cell damage in patients with chronic viral hepatitis.

Keywords: chronic hepatitis C, energy supply of cells, pathogenetic mechanism of endogen intoxication.

Хронічний гепатит С (ХГС) є найактуальнішим питанням медицини й охорони здоров'я багатьох країн, у тому числі й України [1, 2, 3, 5]. Він створює потужний епідемічний процес і є найпоширенішою з хронічних вірусних інфекцій [4]. Україна належить до регіонів із високим рівнем ураженості населення вірусом гепатиту С (ВГС). ВГС характеризується доволі легким клінічним перебігом, практично відсутністю фульмінантних форм, але високою хроніогенністю. Хронізація після гострого ВГС настає у 75–80 % випадках, до 50 % хворих — із низькою клініко-біохімічною активністю процесу [7]. Невирішеність лабораторного підтвердження активності інфекційного процесу багато в чому додатково ускладнює розпізнавання й оцінку тяжкості стану та прогнозування перебігу хвороби [6, 7, 8].

Незважаючи на значну кількість досліджень ХГС, багато важливих аспектів проблеми залишаються недостатньо вивченими. Особливе місце серед них належить діагностиці активності патологічного процесу у хворих на ХГС. Мінімальна клінічна симптоматика захворювання та відсутність гіперферментемії, що традиційно асоціюється зі ступенем активності гепатиту, не дають змоги оцінити справжній характер ураження печінки та визначитися з прогнозом хвороби в цих пацієнтів, які здебільшого є особами працездатного віку [12, 14].

Основою патогенезу багатьох інфекційних і неінфекційних хвороб є ендогенна інтоксикація організму, тобто накопичення в організмі кінцевих і проміжних продуктів метаболізму в разі порушеного обміну. Останнім часом особливу увагу приділяють простим доступним методам оцінки ендогенної інтоксикації, що легко відтворюються на рівні будь-якого лікувального закладу і які не потребують додаткових витрат [10, 11].

Нині відомі кілька механізмів, що сприяють загибелі клітин: пошкодження плазматичної мембрани, дисфункція мітохондрій, утрата внутрішньоклітинного іонного гомеостазу, активація ферментів деградації речовин, окиснювальний стрес унаслідок невідповідності пероксидантних і антиоксидантних ресурсів клітин [11].

У сучасній клінічній практиці недостатньо обґрунтовані метаболічні критерії оцінки ендогенної інтоксикації у хворих на ХГС, що передбачає динамічні зміни та оптимізацію патогенетичної терапії. Аналіз літератури свідчить, що надійним діагностичним критерієм порушення структурно-метаболічного стану клітин та їх внутрішньоклітинних органелів можуть бути білки гострої фази та деякі показники тканинного дихання [9]. Тому актуальним залишається питання дослідження активності лактату, пірувату, НАД⁺ та НАДН₂ як показників енергозабезпечення клітин, що мають різне діагностичне значення.

Мета роботи — визначити закономірності порушення енергозабезпечення як механізм ушкодження клітин у хворих на хронічний вірусний гепатит С.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 120 хворих на хронічний вірусний гепатит С (HCV), які проходили планове обстеження у Медико-діагностичному центрі АСК-Хелс м. Харкова. Клінічні спостереження та обстеження хворих здійснювали в гепатологічному відділенні Обласної клінічної інфекційної лікарні (ОКІЛ). Спостереження за пацієнтами, які проходили курс лікування амбулаторно, реконвалесцентами та вивчення катамнезу проводили в гепатологічному кабінеті ОКІЛ. Лабораторні й інструментальні дослідження виконували в клінічній, біохімічній та вірусологічній лабораторіях ОКІЛ, лабораторії кафедри інфекційних хвороб і на кафедрі біологічної хімії ХНМУ, центральній науково-дослідній лабораторії Харківського національного медичного університету. Обстежено 120 хворих на HCV-інфекцію. Серед них установлено латентну форму (ЛФ) ХГС — у 63, маніфестну форму (МФ) ХГС — у 57 хворих. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

Згідно з Міжнародною класифікацією захворювань печінки, прийнятою в Лос-Анджелесі в 1994 р., ступінь активності патологічного процесу встановлювали за рівнем підвищення активності аланінамінотрансфераз (АлАТ): мінімальне підвищення — < 3 норм, помірне

підвищення — ≥ 3 норм але < 10 норм, виражене підвищення — ≥ 10 норм.

Етіологію захворювання встановлювали на підставі виявлення реплікативної активності в сироватці крові RNA HCV якісним та кількісним методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із використанням набору тест-систем ELISA kit виробництва США, згідно з інструкцією виробника на аналізаторі BIO-Rad CFX96 Touch™ (США).

Метод визначення лактату й пірувату ензиматичний, заснований на окисненні молочної кислоти в піровиноградну ферментом лактат-дегідрогеназою за одночасного відновлення НАД^+ у НАДН_2 . Рівновага реакції зрушена в бік утворення молочної кислоти, але в разі додавання гідрозину, утворену внаслідок реакції піровиноградну кислоту враховують за показником НАД. Про кількість молочної кислоти судять за кількістю НАДН, що утворився, вимірюючи оптичну щільність за 340 нм. Про кількість піровиноградної кислоти судять за спадом НАДН. Кількість НАДН у пробі (у мікромолях) розраховують за формулою:

$$X = \frac{\Delta A_{340} V}{6,22},$$

де ΔA_{340} — зміна оптичної щільності реакційної суміші; V — об'єм проби (мл), у якій відбувається реакція. Коефіцієнт молярного поглинання НАДН за 340 нм дорівнює $6,22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [9].

Усі дослідження було проведено згідно зі всіма нормами з етики й за стандартними операційними процедурами відповідно до рекомендацій МОЗ України у Медико-діагностичному центрі АСК-Хелс м. Харкова.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакета прикладних програм Statistics for Windows 8.0. Використовували методи описової статистики (визначення числових характеристик змінних — середньо-арифметичної M , середньої похибки вибірки, визначення достовірності відмінностей p), що перевіряються за критерієм Ст'юдента-Фішера в репрезентативних вибірках, метод кореляційних структур.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Патогенетичний механізм контролю клітинного метаболізму, який забезпечує підтримку гомеостазу в мінливих умовах довкілля, складається з таких чинників: регуляція редокс-потенціалу та стан окиснюваль-но-відновних нікотинамідних коферментів, про що свідчить співвідношення окиснених і відновлених коферментів [11, 13]. Установлено, що в разі збільшення співвідношення окиснених коферментів до відновлених збільшуються окиснювальні властивості організму, активується функціонування гліколізу, циклу трикарбонових кислот, літогенезу й одночасно сповільнюються реакції глюконеогенезу. Відновлення Fe^{3+} феритину в разі гіпоксії здійснюється за допомогою відновлених субстратів — НАДН, НАДФН, глутатіону та кисню [15].

У хворих на HCV спостерігається збільшення вмісту окиснених нікотинамідних коферментів. Під час глибшого дослідження біоенергетичних процесів у клітині встановлено зсув у співвідношенні НАД^+ і НАДН_2 у бік збільшення НАД як регуляторів функції дихального ланцюга мітохондрій. У всіх групах хворих спостерігали зменшення показників НАДН_2 ($0,002 \pm 0,001$ ммоль/л) за контрольних їх значень $0,01 \pm 0,0005$ ммоль/л. Концентрація НАД^+ ($0,494 \pm 0,03$ ммоль/л) була вірогідно ($p < 0,05$) вища за норму в усіх групах хворих (табл. 1).

Збільшення співвідношення $\text{НАД}^+/\text{НАДН}_2$ знижує активність НАД^+ -залежних ферментів у цитозолі та мітохондріях. Рівновага наступної реакції зміщується праворуч: піруват + $\text{НАДН}_2 + \text{H} \leftrightarrow$ лактат + НАД^+ .

Відновлення дигідроксиацетонфосфату, проміжного метаболіту гліколізу та глюконеогенезу, викликає зниження швидкості глюконеогенезу. Збільшення концентрації НАДН_2 порівняно з НАД^+ уповільнює реакцію окиснення лактату, збільшуючи співвідношення лактат/пірувату, внаслідок чого ще більше сповільнюється швидкість глюконеогенезу. У крові підвищується концентрація лактату.

Окиснювальне декарбоксилювання пірувату супроводжується утворенням НАДН,

Таблиця 1

Концентрація в НАД⁺ і НАДН₂ сироватці крові HCV-інфікованих пацієнтів (ммоль/л)

Досліджувані показники	Норма	ЛФ ХГ	МФ ХГ	ЦП	ГЦК
НАД ⁺	0,126 ± 0,03	0,36 ± 0,08*	0,48 ± 0,4*	0,58 ± 0,12**	0,65 ± 0,3**
НАДН ₂	0,01 ± 0,0005	0,002 ± 0,001*	0,008 ± 0,004*	0,003 ± 0,001**	0,0007 ± 0,0002**
НАД ⁺ /НАДН ₂	0,09 ± 0,02	0,12 ± 0,035	0,15 ± 0,028	0,18 ± 0,04	0,21 ± 0,03

Примітка: * — різниця достовірна порівняно з нормою, ** — різниця достовірна між групами.

який доставляє електрони до дихального ланцюга та забезпечує синтез АТФ. Співвідношення НАД⁺/НАДН₂ у клітині доволі стала величина, тому збільшення концентрації НАДН₂ знижує швидкість декарбоксилювання пірувату, що призводить до патологічних змін у клітині. Зміна співвідношення НАД⁺/НАДН₂ — важливий показник, який відображає енергетичні потреби клітини, що регулюють швидкість окиснювального декарбоксилювання пірувату. Каталітична активність піруватдегідрогеназного комплексу знижується, коли в клітинах є достатня кількість жирних кислот, що ми спостерігали в нашому дослідженні. Під час визначення

тригліцеридів і ліпопротеїнів високої щільності у хворих на HCV встановлено зменшення їх вмісту, що в умовах ендогенної інтоксикації пояснює прискорене використання жирних кислот.

Під час вивчення показників лактату й пірувату було встановлено, що у хворих усіх груп показники лактату перевищували показники контрольної групи та становили для пацієнтів із ЛФ ХГС — 1,89 ± 0,45 ммоль/л та для хворих на МФ ХГС — 2,12 ± 0,23 ммоль/л за контрольних значень 1,56 ± 0,235 ммоль/л. Показники пірувату сироватки крові були значно нижчі, ніж у контрольній групі — 0,056 ± 0,011 ммоль/л і складали для хворих

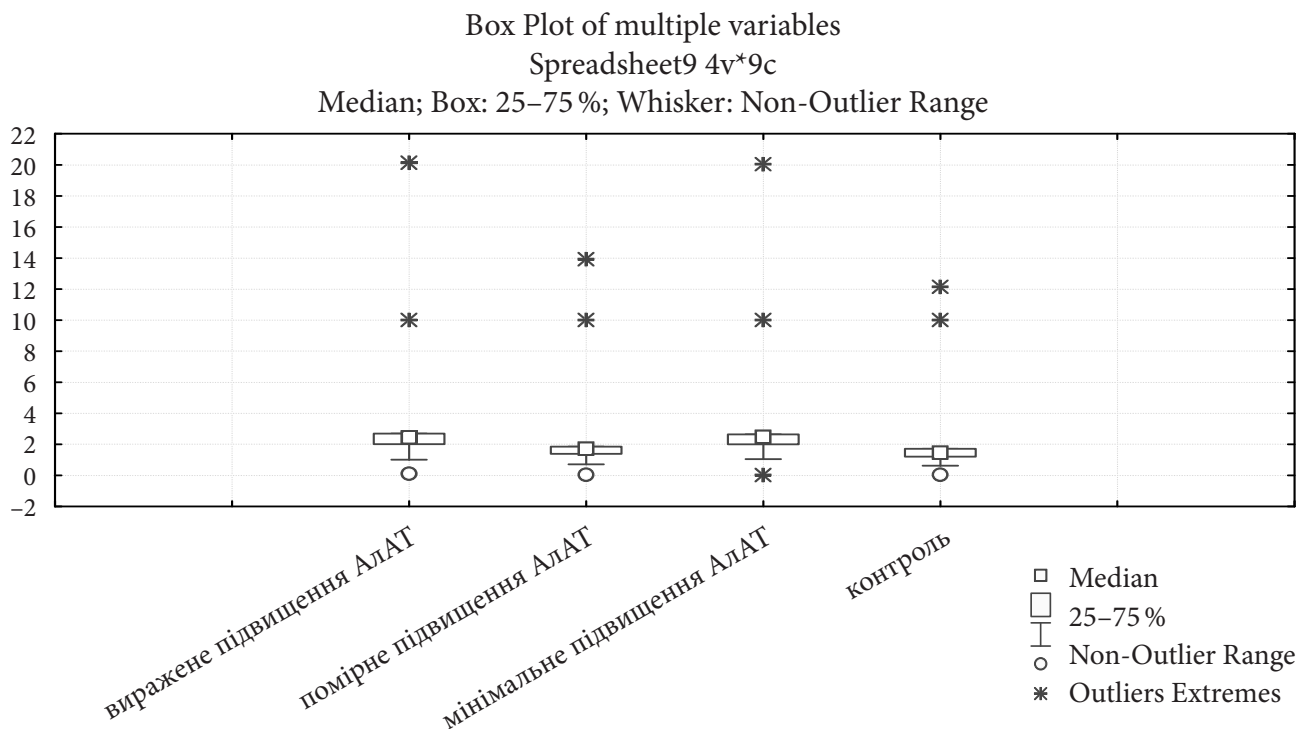


Рис. 1. Концентрація лактату в сироватці крові хворих на гепатит С залежно від рівня підвищення АлАТ

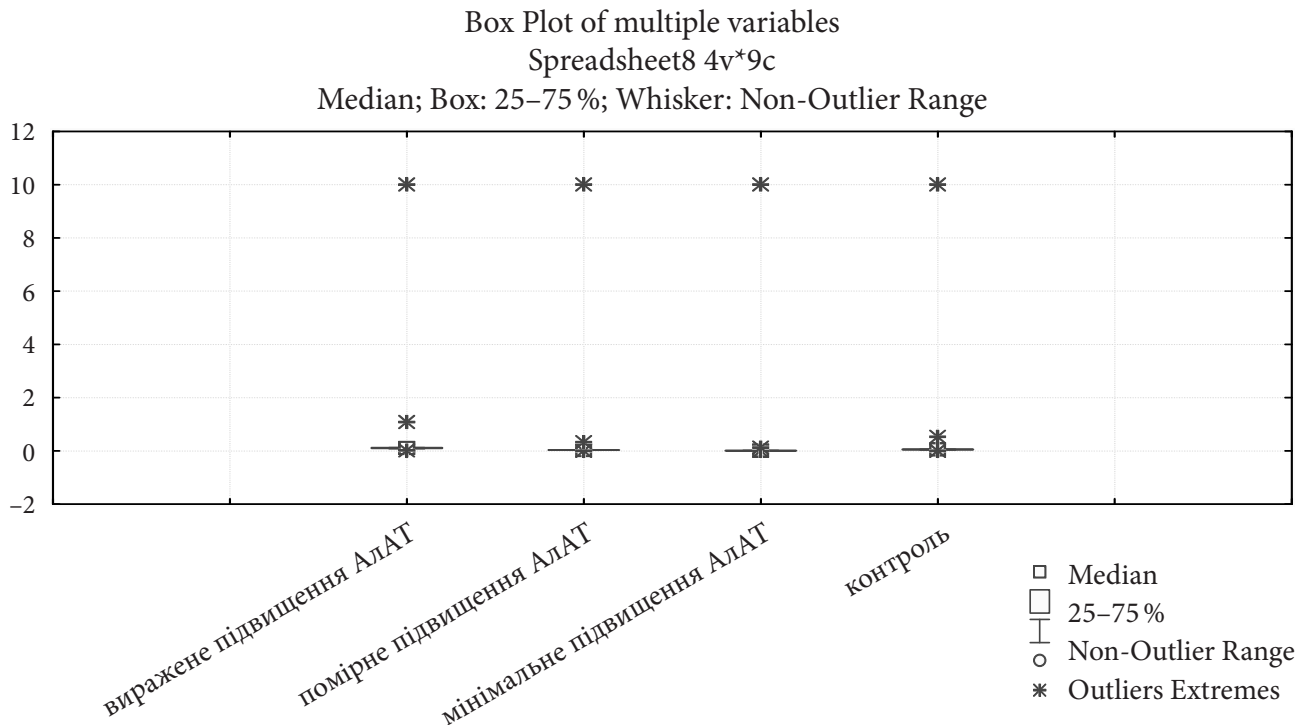


Рис. 2. Концентрація пірувату в сироватці крові хворих на гепатит С залежно від рівня підвищення АлАТ

на ЛФ ХГС $0,031 \pm 0,012$ ммоль/л і в пацієнтів із МФ ХГС — $0,0174 \pm 0,01$ ммоль/л, відповідно.

Під час розподілу цих показників за рівнем підвищення АлАТ встановлено, що найбільша концентрація лактату була в осіб із вираженим підвищенням АлАТ. Однак слід зазначити, що в умовах розвитку ХГС за всіх форм хвороби з різним підвищенням АлАТ показники лактату перевищували контрольні значення (рис. 1, 2).

ВИСНОВКИ

Збільшення вмісту концентрації лактату стимулюватиме синтез колагену фібробластами. Це сприяє збільшенню темпів розвитку цирозу печінки в пацієнтів із вираженим і помірним підвищенням АлАТ.

Перспективи подальших досліджень — визначити закономірності порушення енергозабезпечення як механізм ушкодження клітин у хворих на HCV.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Атаман О. В. Артеріосклероз Менкеберга. Історичний нарис / О. В. Атаман. — Суми : Вид-во СумДУ, 2010. — 86 с.
2. Быць Ю. В. Сравнительно-патологические аспекты энергообеспечения сосудистой стенки / Ю. В. Быць, В. П. Пишак, А. В. Атаман. — Киев ; Черновцы : Прут, 1999. — 330 с.
3. Вітамін Д у хворих на хронічний гепатит С / Л. В. Мороз, Е. Е. О. Мусаєв, О. С. Андросова, О. Гайдук // Проблеми військової охорони здоров'я. — 2015. — Вип. 44 (2). — С. 250–255.
4. Войнар А. И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека / А. И. Войнар. — М. : Высшая школа, 1980. — 312 с.
5. Ещенко В. А. Блокирование цинка как возможная причина клеточной альтерации / В. А. Ещенко // Архив патологии. — 1990. — № 9. — С. 86–88.
6. Золотов Ю. А. Концентрирование микроэлементов / Ю. А. Золотов, Н. М. Кузьмин. — Київ : Наукова думка, 1984. — 283 с.
7. Кузьмин С. Д. Биохимия митотического цикла опухолевых клеток / С. Д. Кузьмин. — Київ : Наукова думка, 1984. — 172 с.

8. Репин В. С. Критические факторы химической регуляции развития / В. С. Репин. — М. : Медицина, 1980. — 246 с.
9. Brault C. Hepatitis C virus-induced mitochondrial dysfunctions / C. Brault, P.L. Levy, B. Bartosch // Viruses. — 2013. — Vol. 5. — P. 954–980. DOI: 10.3390/v5030954.
10. Cichoz-Lach H. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases / H. Cichoz-Lach, A. Michalak // World J. Gastroenterol. — 2014. — Vol. 20. — P. 8082–8091. DOI: 10.3748/wjg.v20.i25.8082.
11. Clausznitzer D. Multi-scale model for hepatitis C viral load kinetics under treatment with direct acting antivirals / D. Clausznitzer, J. Harnisch // Virus research. — 2016. — Vol. 218. — P. 96–101. DOI: 10.1016/j.virusres.2015.09.011
12. Clinicopathological characteristics of hepatitis B surface antigen-negative and hepatitis C antibody-negative hepatocellular carcinoma / H. Iida, T. Aihara, S. Ikuta, N. Yamanaka // Oncol. Lett. — 2015. — Vol. 10. — P. 2233–2238.
13. Daclatasvir with sofosbuvir and ribavirin for hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence / F. Poordad, E. R. Schiff, J. M. Vierling [et al.] // Hepatology. — 2016. — Vol. 63 (5). — P. 1493–1505. DOI: 10.1002/hep.28446.
14. NAD(+) metabolism in age-related hearing loss / H. J. Kim, G. S. Oh, S. K. Choe [et al.] // Aging Dis. — 2014. — Vol. 5. — P. 150–159.
15. Tanase C. P. Caveolin-1: a marker for pancreatic cancer diagnosis / C. P. Tanase // Expert. Rev. Mol. Diagn. — 2008. — Vol. 8, № 4. — P. 395–404.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН ХМАПО ПЛАТНИХ ЦИКЛІВ СПЕЦІАЛІЗАЦІЇ Й УДОСКОНАЛЕННЯ ЛІКАРІВ НА 2018 РІК

КАФЕДРА СЕКСОЛОГІЇ, МЕДИЧНОЇ ПСИХОЛОГІЇ, МЕДИЧНОЇ ТА ПСИХОЛОГІЧНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ

Зав. кафедри проф. Кришталь Є. В. _____ **тел.: 725-06-76**

Сексопатологія (для лікарів, які атестуються на II, I, вищу категорії)	30.05–29.06
Медична психологія (для лікарів, які атестуються на II, I, вищу категорії)	30.05–29.06
Медична психологія (для лікарів, які підтверджують звання лікаря-спеціаліста)	30.05–29.06
Медична психологія (для лікарів лікувального профілю)	29.08–29.12
Сексопатологія (для психіатрів, акушерів-гінекологів, дерматовенерологів, урологів)	29.08–29.12
Сексопатологія (для лікарів, які підтверджують звання лікаря-спеціаліста)	29.08–27.09
Медична психологія (для лікарів, які підтверджують звання лікаря-спеціаліста)	28.09–29.10

КАФЕДРА ПСИХОТЕРАПІЇ

Зав. кафедри проф. Михайлов Б. В. _____ **тел.: 343-41-44; 349-44-23**

Психотерапія (для лікарів, які підтверджують звання лікар-спеціаліст)	04.09–03.10
Психокорекція посттравматичного стресового розладу і розладів адаптації та медико-психологічна реабілітація учасників АТО, членів їх сімей, тимчасово переміщених осіб (для практичних психологів та соціальних працівників закладів охорони здоров'я, підрозділів ДСНС, центрів соціального захисту населення)	04.10–02.11
Психотерапія (для лікарів, які атестуються на II, I, вищу категорії)	12.11–11.12