

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ ІНСТРУМЕНТАЛЬНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ОЗНАК ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С ПРИ ПРОГРЕСУВАННІ ЗМІШАНОЇ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ

Ю.Ю. Рябоконт, М.Ю. Колесник, А.В. Абрамов, О.В. Рябоконт

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Зв'язок з авторами: Ю.Ю. Рябоконт, д.мед.н, доцент кафедри дитячих інфекційних хвороб ЗДМУ; тел.+38097-915-49-01; E-mail: RyabokonZSMU@gmail.com

У дослідження було включено 214 хворих на хронічний гепатит С. Показано, що у хворих біохімічні та ультразвукові ознаки ендотеліальної дисфункції з'являються за умов наявності змішаної кріоглобулінемії. Прогресування клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії поєднується з розвитком і поглибленням ендотеліозалежної дисфункції ендотелію, зниженням вмісту в сироватці крові основного субстрату для синтезу NO, а саме L-аргініну, та зростанням вмісту С-реактивного протеїну. Виявлені корелятивні зв'язки між кількісним вмістом змішаних кріоглобулінів і показниками ендотеліозалежної функції ендотелію й вмістом L-аргініну підтверджують роль ендотеліальної дисфункції у формуванні та прогресуванні HCV-індукованої змішаної кріоглобулінемії з розвитком кріоглобулінемічного синдрому.

Ключові слова: хронічний гепатит С, змішана кріоглобулінемія, ендотеліальна дисфункція.

ВЗАИМОСВЯЗИ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ СМЕШАННОЙ КРИОГЛОБУЛИНЕМИИ

Ю.Ю. Рябоконт, М.Ю. Колесник, А.В. Абрамов, Е.В. Рябоконт

Запорожский государственный медицинский университет, г Запорожье, Украина

Под наблюдение было включено 214 больных хроническим гепатитом С. Показано, что у больных биохимические и ультразвуковые признаки эндотелиальной дисфункции появляются при условии наличия смешанной криоглобулинемии. Прогрессирование клиничко-биохимических признаков смешанной криоглобулинемии сочетается с развитием и прогрессированием эндотелиозависимой дисфункции эндотелия, снижением содержания

в сыворотке крови основного субстрата для синтеза NO, а именно L-аргинина, и увеличением содержания C-реактивного протеина. Выявленные коррелятивные связи между количественным содержанием смешанных криоглобулинов и показателями эндотелийзависимой функции эндотелия и содержанием L-аргинина подтверждают роль эндотелиальной дисфункции в формировании и прогрессировании HCV-индуцированной смешанной криоглобулинемии с развитием криоглобулинемического синдрома.

Ключевые слова: хронический гепатит С, смешанная криоглобулинемия, эндотелиальная дисфункция.

INTERRELATIONSHIP OF INSTRUMENTAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C WITH PROGRESSIVE MIXED CRYOGLOBULINEMIA

Yu. Yu. Riabokon, M. Yu. Kolesnik, A. V. Abramov, E. V. Riabokon

Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine

The study included 214 patients with chronic hepatitis C. It has been shown that biochemical and ultrasound signs of endothelial dysfunction appear in patients in the presence of mixed cryoglobulinemia. Progression of clinical and biochemical features of mixed cryoglobulinemia is combined with the development and progression of endothelium-dependent endothelial dysfunction, decrease in the content of the main substrate for NO synthesis, namely, L-arginine, and increase in the content of C-reactive protein in the blood serum. The revealed correlations between the quantitative content of mixed cryoglobulins and endothelium-dependent endothelial function and L-arginine confirm the role of endothelial dysfunction in the formation and progression of HCV-induced mixed cryoglobulinemia with the development of cryoglobulinemic syndrome.

Key words: chronic hepatitis C, mixed cryoglobulinemia, endothelial dysfunction.

Проблема хронічного гепатиту С (ХГС) є однією з найбільш актуальних в сучасній інфектології, що обумовлено не лише високим ризиком розвитку цирозу печінки, а й високою частотою формування змішаної криоглобулінемії та обумовленого нею криоглобулінемічного синдрому,

які підвищують ризик смертності цих хворих [1, 2]. При ХГС розвиток змішаної криоглобулінемії призводить до відкладання в стінці дрібних судин імунних комплексів, основним компонентом яких є, саме, криоглобуліни. Крім того, доведена можливість низької реплікації HCV у деяких тканинах

нелімфоїдного походження, у тому числі в ендотелії судин [3]. Вищезазначені механізми ураження ендотелію судин при ХГС створюють умови для формування ендотеліальної дисфункції. Ендотелій виконує вазорегулюючу функцію, синтезуючи вазодилатори та вазоконстриктори, взаємовідносини між якими регулюють самі ендотеліальні клітини на рівні автокринної регуляції [4]. В умовах хронічного процесу патологічні зміни судин можуть мати безсимптомний перебіг протягом багатьох років, а гемодинамічні зміни на доклінічному етапі виникають, насамперед, на рівні мікроциркуляції [5]. У дослідженні [6] показано, що дисфункція ендотелію впливає на печінкову гемодинаміку, а саме, призводить до звуження синусоїдів, активації зірчастих клітин печінки, наслідком чого є активація фіброгенезу в печінці. При цьому клінічна роль ендотеліальної дисфункції в розвитку позапечінкових проявів хронічної HCV-інфекції досі не з'ясована.

Насьогодні існують різні методи виявлення ендотеліальної дисфункції. Метод інструментальної оцінки функції ендотелію – ультразвукове дослідження (УЗД) ендотеліозалежної вазодилатації плечової артерії, який з високим ступенем вірогідності відображає стан вазорегулюючої функції судинного ендотелію. При УЗД для оцінки ендотеліального механізму регуляції судинного тонуусу застосовується проба потікзалежної вазодилатації. До активації ендотеліального механізму призводить подразнення ендотелію внаслідок деформації су-

динної стінки в момент “гемодинамічного удару”, що виникає при швидкій декомпресії просвіту артерії. У відповідь на це виділяється ряд ендотеліозалежних вазоактивних медіаторів, найбільш значне місце серед яких в розвитку дилатаційної реакції належить ендотелійрелаксуючому фактору – NO [4, 7].

Одним з біохімічних маркерів ендотеліальної дисфункції насьогодні вважають С-реактивний протеїн (CRP), який є високочутливим, неспецифічним показником запалення [8]. Синтез CRP відбувається переважно в печінці та регулюється прозапальними цитокінами, здійснюється впродовж декількох годин після індукції, при цьому, в подальшому концентрація його в плазмі крові залишається стабільною тривалий час [9]. Однак, циркулюючи в крові, CRP може мати й цитотоксичну дію [10]. CRP бере безпосередню участь у активації ендотелію та розвитку дисфункції ендотелію, має супресорний вплив на фермент NO-синтезу, за допомогою якого синтезується NO зі свого головного субстрату L-аргініну [11, 12].

Мета роботи. Оцінити зміни інструментальних та біохімічних ознак ендотеліальної дисфункції при прогресуванні змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С.

Матеріал та методи.

У дослідження було включено 214 хворих на ХГС в гепатологічному центрі Комунальної установи “Обласна інфекційна клінічна лікарня” Запорізької обласної ради. Чоловіків було 126 (58,9 %), жінок – 88 (41,1 %). Вік

хворих коливався від 19 до 60 років, у середньому склав $42,1 \pm 0,7$ роки. Всі хворі включені в дослідження за інформованою згодою.

Залежно від ступеня вираженості змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС пацієнти були розділені на групи: I група – 51 хворий, які не мали клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії; II група – 67 хворих з наявністю лише біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії при відсутності її клінічних проявів; III група – 68 пацієнтів з наявністю біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії та окремих клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому (виражена загальна слабкість, артралгія); IV група – 28 пацієнтів з наявністю біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії та клінічної маніфестації геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту.

Для оцінки ендотеліальної функції проводили визначення ендотеліальної вазодилатації плечової артерії інструментальним методом – УЗД плечової артерії, з використанням ехолокації високої роздільної здатності правої плечової артерії, що з високим ступенем вірогідності відображає стан вазорегулюючої функції судинного ендотелію. Принцип методу полягає в тому, що до активації ендотеліального механізму призводить подразнення ендотелію внаслідок деформації судинної стінки в момент “гемодинамічного удару”, що виникає при швидкій декомпресії просвіту артерії. У відповідь на це виділяється ряд ендотеліозалежних вазоактивних медіаторів. УЗД проводилося

згідно рекомендацій Міжнародної робочої групи з вивчення реактивності плечової артерії (2002 р.) до/після тимчасової оклюзії артерії манжетою тонометра [13]. УЗД плечової артерії проводилося натщесерце за допомогою лінійного датчика з частотою 12 МГц на апараті “MyLab50 CV” (Італія). Проводилося визначення таких показників: внутрішній діаметр плечової артерії в стані спокою (мм); внутрішній діаметр плечової артерії після її тимчасової компресії манжетою тонометра (мм); % гіперемії – відносне збільшення (зменшення) внутрішнього діаметра плечової артерії після тимчасової компресії (%) – ендотеліозалежна вазодилатація. Згідно загальноприйнятим стандартам, нормальна реакція плечової артерії відповідає збільшенню діаметра більше ніж на 10 %. УЗД плечової артерії проведено в Університетській клініці ЗДМУ доцентом кафедри сімейної медицини, д. мед. н. Колесником М.Ю.

Спеціальні лабораторні дослідження були проведені в Навчально-лабораторному центрі Запорізького державного медичного університету (завідувач – професор Абрамов А.В.) та включали визначення в сироватці крові хворих на ХГС та 30 здорових осіб контрольної групи кріоглобулінів – спектрофотометричним методом, L-аргініну – хроматографічним методом, С-реактивного протеїну – імуноферментним методом.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень здійснювали на персональному комп’ютері з використанням сформованої бази даних обсте-

жених пацієнтів і здорових осіб контрольної групи по програмі «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Всі спеціальні результати досліджень представлені у вигляді Me ($Q_{25} - Q_{75}$). При порівнянні ознак в декількох (три та більше) незалежних вибірках спочатку використовували аналіз за Краскелом-Уолісом; при наявності достовірних ($p < 0,05$) відмінностей проводили оцінку достовірності різниці ознак між вибірками, застосовуючи критерій Манна-Уїтні. Для оцінки достовірності різниці якісних ознак між двома незалежними вибірками застосовували метод хі-квадрат (χ^2). Для оцінки ступеня зв'язку між ознаками застосовували метод рангової кореляції Спірмена.

Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз результатів дослідження ультразвукових ознак ендотеліозалежної функції ендотелію, а саме, реактивної гіперемії плечової артерії, у хворих на ХГС у зв'язку з наявністю

та різним ступенем вираженості змішаної кріоглобулінемії показав, що у пацієнтів I групи, які не мали клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії, діаметр плечової артерії після тимчасової оклюзії збільшувався більш ніж на 10 %, що свідчило про відсутність ультразвукових ознак дисфункції ендотелію. Проте за умов появи біохімічних і клініко-біохімічних ознак НСВ-асоційованої змішаної кріоглобулінемії, зафіксовано зменшення реактивної гіперемії плечової артерії, при цьому цей показник у хворих II-IV груп виявився достовірно нижчим, порівняно з хворими I групи (табл. 1).

Аналіз вмісту CRP в сироватці крові хворих на ХГС, залежно від наявності та ступеня вираженості змішаної кріоглобулінемії, показав підвищення його рівня, порівняно зі здоровими людьми, у пацієнтів всіх досліджуваних груп. При цьому у хворих на ХГС за умов маніфестації клінічних проявів геморагічного крі-

Таблиця 1

Реактивна гіперемія плечової артерії у хворих на ХГС, залежно від наявності та ступеня вираженості змішаної кріоглобулінемії, Me ($Q_{25} - Q_{75}$)

Показник	Референтні значення	Хворі на ХГС (n=214)			
		I група (n=51)	II група (n=67)	III група (n=68)	IV група (n=28)
Діаметр плечової артерії до оклюзії, мм	–	3,7 (3,5 – 4,3)	3,7 (3,3 – 4,2)	3,6 (3,2 – 4,2)	4,1 (3,9 – 4,2)
Діаметр плечової артерії після оклюзії, мм	–	4,3 (4,1 – 4,8)	4,2 (3,5 – 4,5)	3,9 (3,5 – 4,4)	4,3 (4,2 – 4,3)
Реактивна гіперемія, %	> 10	15,4 (10,8 – 22,3)	9,4 (4,4 – 12,9)*	5,7 (0 – 10,9)*	2,4 (0 – 4,9)*

* - різниця достовірна порівняно з хворими на ХГС I групи ($p < 0,05$).

оглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера (IV група) вміст CRP виявився найвищим та перевищував аналогічний показник у пацієнтів I групи ($p=0,02$), які не мали клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії, та II групи ($p=0,02$), які мали лише біохімічні ознаки змішаної кріоглобулінемії (табл. 2).

Розвиток і поглиблення ендотеліальної дисфункції у хворих на ХГС при появі та прогресуванні ознак змішаної кріоглобулінемії поєднувалися зі зниженням вмісту в сироватці крові основного субстрату для синтезу NO, а саме L-аргініну. Аналіз вмісту L-аргініну в сироватці крові хворих на ХГС, у пацієнтів з наявністю ознак змішаної кріоглобулінемії II-IV груп залежно від наявності та ступеня вираженості змішаної кріоглобулінемії, показав достовірне зниження його рівня, порівняно зі здоровими людьми. Крім того, у хворих з наявністю клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому (III та IV групи) вміст

L-аргініну в сироватці крові виявився нижче аналогічного у хворих I групи, які не мали клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії. Слід зазначити, що у хворих на ХГС за відсутності клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії (I група) вміст L-аргініну в сироватці крові статистично не відрізнявся від показника здорових осіб (табл. 2).

Кореляційний зв'язок між вмістом змішаних кріоглобулінів у сироватці крові та показником ендотеліальної функції ендотелію, а саме реактивною гіперемією плечової артерії ($r=-0,52$, $p<0,05$), підтверджує роль ендотеліальної дисфункції в розвитку та прогресуванні ознак НСВ-індукованої змішаної кріоглобулінемії. Крім того, наявність достовірної зворотної кореляції середнього ступеня між вмістом у сироватці крові змішаних кріоглобулінів і L-аргініну ($r=-0,44$, $p<0,05$) підтверджує роль дефіциту субстрату для синтезу NO в розвитку ендотеліальної дисфункції

Таблиця 2

Порівняння вмісту С-реактивного протеїну та L-аргініну у хворих на ХГС залежно від вираженості змішаної кріоглобулінемії, Ме ($Q_{25} - Q_{75}$)

Показник	Здорові люди (n=30)	Хворі на ХГС (n=214)			
		I група (n=51)	II група (n=67)	III група (n=68)	IV група (n=28)
Змішані кріоглобуліни, опт. од	< 2,5	2,1 (1,9 - 2,2)	3,8 (3,2 - 4,1)	4,1 (3,7 - 4,7) ***	5,0 (4,1 - 5,3) *...
С-реактивний протеїн, mg/l	0,1 (0,09 - 0,11)	0,7 (0,4 - 1,25) *	0,8 (0,4 - 1,6) *	0,9 (0,4 - 2,4) *	1,7 (0,9 - 4,2) *... **
L-аргінін, мкмоль/л	255,1 (156,6 - 303,0)	171,2 (145,6; 284,1)	143,3 (116,2 - 217,2) *	121,3 (90,9 - 191,9) **	114,3 (92,7 - 151,5) *..

* - різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми ($p<0,01$);

** - порівняно з хворими I групи ($p<0,05$);

*** - порівняно з хворими II групи ($p<0,05$).

та прогресуванні змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС.

Відповідно до даних сучасних досліджень, ендотелій, з одного боку, бере участь практично у всіх процесах, що визначаються як гомеостаз, гемостаз й запалення, а з іншого боку – це перший орган-мішень, що найбільш рано реалізує багато ланок патогенезу різних захворювань [4]. Патологічні зміни судин можуть мати безсимптомний перебіг протягом ряду років, причому гемодинамічні розлади на доклінічному етапі виникають насамперед на рівні мікроциркуляції та характеризуються судинною й клітинною активацією [14, 15]. Отримані в нашому дослідженні дані щодо біохімічних та ультразвукових ознак ендотеліальної дисфункції, які виникають раніше за клінічні прояви змішаної кріоглобулінемії у хворих з хронічною HCV-інфекцією, свідчать про тривалий період безсимптомного перебігу патологічних змін судинної стінки, що

обумовлює несвоєчасну діагностику, а в подальшому швидке прогресування позапечінкових проявів ХГС.

Висновки:

1. У хворих на ХГС біохімічні та ультразвукові ознаки ендотеліальної дисфункції з'являються за умов наявності змішаної кріоглобулінемії.

2. Прогресування клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії поєднується з розвитком і поглибленням як ендотеліозалежної дисфункції ендотелію, зниженням вмісту в сироватці крові основного субстрату для синтезу NO, а саме L-аргініну, та зростанням вмісту C-реактивного протеїну.

3. Виявлені корелятивні зв'язки між кількісним вмістом змішаних кріоглобулінів і показниками ендотеліозалежної функції ендотелію й вмістом L-аргініну підтверджують роль ендотеліальної дисфункції в клінічній маніфестації ознак HCV-індукованої змішаної кріоглобулінемії.

Література

1. Lee, M., Yang, H., Lu, S. [et al.] Chronic Hepatitis C Virus Infection Increases Mortality From Hepatic and Extrahepatic Diseases: A Community-Based Long-Term Prospective Study. *Journal Of Infectious Diseases*. 2012;206: 469-477.
2. Sabino Russi, Domenico Sansonno, Maria Addolorata Marigliò [et al.] Assessment of total hepatitis C virus (HCV) core protein in HCV-related mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Res Ther*. 2014;16: P. 73.
3. Ferri C., Sebastiani M., Giuggioli D. [et al.] Hepatitis C virus syndrome: A constellation of organ- and non-organ specific autoimmune disorders, B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and cancer. *World J Hepatol*. 2015; 7(3): 327–343.
4. Gill K., Ghazinian H., Manch R. [et al.] Hepatitis C virus as a systemic disease: reaching beyond the liver. *Hepatol Int*. 2016 May; 10(3): 415–423.
5. Fletcher N.F., Wilson G.K., Murray J. [et al.] Hepatitis C Virus Infects the Endothelial Cells of the Blood-Brain Barrier. *Gastroenterology*. 2012 Mar; 142(3): 634–643.
6. Vairappan B. Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. *WorldJHepatol*. 2015 Mar 27; 7(3): 443–459.

7. Рогоза А.Н., Заирова А.Р., Ощепкова Е.В. Измерение скорости пульсовой волны при пробе с реактивной гиперемией как метод оценки вазомоторной функции эндотелия у больных гипертонической болезнью. *Терапевтический архив*. 2008; № 4: 29-33.
8. Aziz N., Fahey J.L., Detels R. Analytical performance of a highly sensitive C-reactive protein-based immunoassay and the effects of laboratory variables on levels of protein in blood. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2003; 10: 652-657.
9. Badimon L., Peña E., Arderiu G. [et al.] C-Reactive Protein in Atherothrombosis and Angiogenesis. *Front Immunol.* 2018; 9: 430.
10. Chih-Sheng Chu, Yu-Chen Wang, Long-Sheng Lu [et al.] Electronegative Low-Density Lipoprotein Increases C-Reactive Protein Expression in Vascular Endothelial Cells through the LOX-1 Receptor. *PLoS One*. 2013; 8(8): e70533.
11. Pasceri V., Willerson J.T., Edvard T.H. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2004; 102: 2165-2168.
12. Szalai A.J. The biological functions of C-reactive protein. *Vasc. Pharmacol.* 2002; 39: 105-107.
13. Mary C., Corretti M.D., Anderson M.D. [et al.] Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002; 39: 257-265
14. Macdonald P. Assessment of endothelial function – go with the flow / P. Macdonald. *Internal Medicine Journal*. 2008; 27: 637-638.
15. Munzel T., Sinning C., Posl F. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Annals of medicine*. 2008; 40: 180-183.