

СОСТОЯНИЕ И РОЛЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С (ГЕНОТИП 1В) ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Дмитрий Юрьевич Константинов*, Алексей Александрович Суздальцев

Самарский государственный медицинский университет

Реферат

Цель. Установить содержание продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах больных хроническим гепатитом С (генотип 1b) до начала противовирусной терапии и после её завершения.

Методы. Обследованы 195 пациентов с хроническим гепатитом С (генотип 1b). Определяли содержание диеновых конъюгатов, триенкетонов, оснований Шиффа и индекс окисленности после экстракции из мембран эритроцитов смесью хлороформ/изопропанол (2:1) по методу И.Д. Стальной в модификации И.А. Волчегорского. В зависимости от активности аланинаминотрансферазы все пациенты до начала противовирусной терапии были распределены на четыре группы: первая группа (n=52) – с нормальным уровнем фермента, вторая (n=74) – до 3 норм, третья группа (n=42) – от 3 до 5 норм, четвёртая группа (n=27) – более 5 норм. Противовирусная терапия включала пегинтерферон альфа-2b и рибавирин курсом 48 нед.

Результаты. Уровень диеновых конъюгатов, триенкетонов, оснований Шиффа и индекс окисленности составили от $0,71 \pm 0,04$ до $1,02 \pm 0,03$, от $0,45 \pm 0,08$ до $0,94 \pm 0,02$, от $0,17 \pm 0,04$ до $0,41 \pm 0,04$ и от $0,91 \pm 0,13$ до $1,91 \pm 0,03$ отн.ед. соответственно, что было статистически значимо выше нормы и находилось в прямой зависимости от активности аланинаминотрансферазы. При этом у пациентов, не ответивших на противовирусную терапию, данные показатели были максимально повышенными по отношению к пациентам с непосредственным вирусологическим ответом ($p < 0,01$).

Вывод. У пациентов с хроническим гепатитом С отмечено повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах; их высокое содержание у больных, не ответивших на противовирусную терапию, может быть одним из предикторов эффективности противовирусной терапии.

Ключевые слова: хронический гепатит С, перекисное окисление липидов, противовирусная терапия.

FEATURES AND ROLE OF LIPID PEROXIDATION IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C (GENOTYPE 1B) BEFORE AND AFTER ANTIVIRAL THERAPY

D.Yu. Konstantinov, A.A. Suzdal'tsev

Samara State Medical University, Samara, Russia

Aim. To estimate the levels of lipid peroxidation products in erythrocytes of patients with chronic hepatitis C (genotype 1b) before the initiation of antiviral therapy and after its completion.

Methods. The study included 195 patients with chronic hepatitis C (genotype 1b). The levels of conjugated dienes, triene ketones, Schiff bases and oxidation index were measured after extraction of erythrocyte membranes with chloroform/isopropanol (2:1) mixture according to I.D. Stal'naya method modified by I.A. Volchegorskiy. All patients were allocated to four groups depending on the alanine transaminase activity prior to antiviral therapy: the first group (n=52) – with normal levels of the enzyme, the second (n=74) – with elevation not exceeding 3 normal ranges, the third group (n=42) – 3 to 5 normal ranges, the fourth group (n=27) – exceeding 5 normal ranges. Antiviral treatment included pegylated interferon alfa-2b and ribavirin for 48 weeks.

Results. Level of conjugated dienes, triene ketones, Schiff bases and oxidation index were ranged from 0.71 ± 0.04 to 1.02 ± 0.03 , from 0.45 ± 0.08 to 0.94 ± 0.02 , 0.17 ± 0.04 to 0.41 ± 0.04 and from 0.91 ± 0.13 to 1.91 ± 0.03 units respectively, which was significantly higher than normal ranges and was directly dependent on the alanine transaminase activity. In addition, in patients who did not respond to antiviral treatment, these parameters were significantly higher compared to patients with immediate virologic response ($p < 0.01$).

Conclusion. Patients with chronic hepatitis C had increased levels of lipid peroxidation products in erythrocytes; their high content in patients who did not respond to antiviral treatment may be a predictive factor for antiviral treatment effectiveness.

Keywords: chronic hepatitis C, lipid peroxidation, antiviral treatment.

Известно, что у больных хроническими вирусными гепатитами развивается дисфункция системы мононуклеарных фагоцитов, основными проявлениями которой служат резкое повышение уровня провоспалительных цитокинов, истощение ферментного и субстратного звеньев антиоксидантной системы сыворотки крови, дисбаланс системы интерферона и другие признаки вторичной иммунной недостаточности [1, 3]. Чрезмерная активация цитокиновой сети с гиперпродукцией преимущественно провоспалительных цитокинов, генерацией активных

форм кислорода и последующим истощением антиоксидантного потенциала сыворотки крови являются важными звеньями патогенеза хронического гепатита С (ХГС) и способствуют снижению эффективности этиотропной терапии [4]. Повреждение мембранного аппарата гепатоцитов радикалами кислорода приводит к нарушениям рецепции биологически активных веществ, в том числе противовирусных средств [2]. Показано, что при проведении интерферонотерапии в результате индуцированной цитокинами повышенной активности фермента ксантинооксидазы усиливается процесс образования активных форм кислорода в гепатоцитах [1].

Содержание продуктов перекисного окисления липидов (отн.ед.) в эритроцитах пациентов с хроническим гепатитом С в зависимости от уровня аланинаминотрансферазы до начала противовирусной терапии (M±m)

Показатели	Здоровые, n=50	Пациенты с хроническим гепатитом С			
		Первая группа, n=52	Вторая группа, n=74	Третья группа, n=42	Четвёртая группа, n=27
Диеновые конъюгаты	0,46±0,07	0,71±0,04* p ₂ <0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,05	0,89±0,05* p ₁ <0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,05	0,97±0,06* p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₄ >0,05	1,02±0,03* p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,05
Триенкетоны	0,35±0,90	0,45±0,08* p ₂ >0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,05	0,69±0,11* p ₁ <0,05 p ₃ >0,05 p ₄ <0,05	0,79±0,19* p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₄ >0,05	0,94±0,02* p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,05
Основание Шиффа	0,15±0,05	0,17±0,04* p ₂ >0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,05	0,31±0,05* p ₁ >0,05 p ₃ >0,05 p ₄ <0,05	0,34±0,03* p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₄ >0,05	0,41±0,04* p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,05
Индекс окисленности	0,51±0,06	0,91±0,13* p ₂ >0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,05	1,02±0,11* p ₁ >0,05 p ₃ <0,05 p ₄ <0,05	1,75±0,27* p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₄ >0,05	1,91±0,03* p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,05

Примечание: *статистическая значимость различий по сравнению с контролем (здоровыми): p₁ – для больных хроническим гепатитом С первой группы, p₂ – для второй группы, p₃ – для третьей группы, p₄ – для четвёртой группы; первая группа – лица с нормальным уровнем аланинаминотрансферазы, вторая – до 3 норм, третья группа – от 3 до 5 норм, четвёртая группа – более 5 норм.

Таким образом, в патогенезе повреждения печени при инфекции, обусловленной вирусом гепатита С (HCV), важную роль играет нарушение равновесия системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты с накоплением токсических форм свободных радикалов и реактивных метаболитов при одновременном наличии иммунологических нарушений. Дисбаланс в оксидантной и антиоксидантной системах может способствовать прогрессированию заболевания, развитию цирроза печени, а также малигнизации [3, 4].

Цель работы – установить содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах больных ХГС с генотипом 1b до начала противовирусной терапии (ПВТ) и после её завершения.

Обследованы 195 пациентов с ХГС с различным уровнем аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови. Мужчин было 92, женщин – 103, средний возраст составил 44,8±3,5 года. Критерием включения в исследование было наличие у пациентов подтверждённого (анамнестическими, клинико-лабораторными данными) ХГС в фазе репликации (РНК HCV+), генотип вируса – 1b. Критериями исключения были наличие антител к вирусу иммунодефицита человека и клинически значимых заболеваний печени (например, алкогольная болезнь печени, приём гепатотоксических лекарственных препаратов, аутоиммунный хронический гепатит, гемохроматоз, цирроз печени).

Все больные были комплексно обследованы с

помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов. Диагноз ХГС подтверждали выявлением в сыворотке крови специфических антител к антигенам HCV (суммарные антитела, иммуноглобулины класса G) и РНК HCV методом полимеразной цепной реакции с идентификацией генотипа и количества вируса. Определяли содержание диеновых конъюгатов, триенкетонов, оснований Шиффа после экстракции их из мембран эритроцитов смесью хлороформ/изопропанол (2:1) по методу И.Д. Стальной в модификации И.А. Волчегорского.

Спектрофотометрию липидного экстракта проводили при четырёх длинах волн: 220, 232, 278, 440 нм. Поглощение при 220 нм соответствовало оптической плотности изолированных двойных связей и характеризовало степень ненасыщенности липидов мембран эритроцитов (индекс окисленности). Значения экстинкций при 232 и 278 нм являются функцией содержания первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (триенкетоны) продуктов ПОЛ в липидном экстракте. Значение экстинкции при 440 нм характеризовало содержание конечных продуктов ПОЛ – оснований Шиффа. Результаты представляли в виде соотношений E_{232}/E_{220} , E_{278}/E_{220} , E_{440}/E_{220} , которые отражают относительный уровень первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ соответственно.

В качестве контрольной группы обследованы 50 доноров. В зависимости от активности АЛТ все пациенты до начала ПВТ были распределены на четыре группы: первая группа (n=52) – больные с

Содержание продуктов перекисного окисления липидов (отн.ед.) в эритроцитах пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) до начала и после завершения противовирусной терапии (ПВТ), в том числе у лиц, не ответивших на неё (M±m)

Показатели	Здоровые, n=50 (0)	До начала ПВТ, n=195 (1)	После завершения ПВТ (ответившие на терапию), n=156 (2)	Пациенты не отве- тившие на ПВТ, n=39 (3)
Диеновые конъюгаты	0,46±0,07	0,91±0,05* p ₁₋₂ <0,01	0,60±0,02* p ₂₋₃ <0,01	1,12±0,07* p ₁₋₃ <0,01
Триенкетоны	0,35±0,90	0,74±0,11* p ₁₋₂ <0,01	0,48±0,13* p ₂₋₃ <0,01	0,94±0,09* p ₁₋₃ <0,01
Основание Шиффа	0,15±0,05	0,37±0,04* p ₁₋₂ <0,01	0,26±0,02* p ₂₋₃ <0,01	0,51±0,05* p ₁₋₃ <0,01
Индекс окисленности	0,51±0,06	1,48±0,14* p ₁₋₂ <0,01	0,88±0,16* p ₂₋₃ <0,01	1,61±0,12* p ₁₋₃ <0,01

Примечание: *статистическая значимость различий по сравнению с контролем (здоровыми); p₁₋₂ — для больных ХГС до начала и после завершения ПВТ (у пациентов, ответивших на терапию); p₂₋₃ — для показателей после завершения ПВТ у больных ХГС, ответивших и не ответивших на ПВТ; p₁₋₃ — для показателей у больных ХГС до начала ПВТ и больных, не ответивших на ПВТ.

нормальным уровнем АЛТ, вторая группа (n=74) — с уровнем АЛТ до 3 норм, третья группа (n=42) — от 3 до 5 норм, четвёртая группа (n=27) — более 5 норм.

Пациенты получали пэгинтерферон альфа-2b подкожно в дозе 100 мкг 1 раз в неделю и рибавирин по 1000 мг в сутки ежедневно в течение 48 нед. В период лечения проводили ежемесячное клиническое и биохимическое мониторирование. РНК HCV определяли через 1 мес от начала терапии, затем каждые 3 мес лечения. Всем пациентам проводили ультразвуковое трансабдоминальное сканирование органов брюшной полости до начала терапии, далее каждые 6 мес. Проведённое исследование было одобрено этическим комитетом, все пациенты давали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическую обработку и графическую визуализацию данных производили с использованием приложений Microsoft Excel пакета Office 2007 и Statistica (StatSoft) версии 6.0, функционировавших в операционной среде Microsoft Windows 7 Professional.

Содержание продуктов ПОЛ (отн.ед.) в эритроцитах больных ХГС в зависимости от уровня АЛТ до начала ПВТ представлено в табл. 1.

После того как пациенты прошли 48-недельный курс ПВТ по указанной выше схеме, мы повторно определили содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах больных ХГС на момент непосредственного вирусологического ответа, данные представлены в табл. 2. Нужно отметить, что ПВТ была прекращена у 39 пациентов (у 24 человек был зарегистрирован вирусологический прорыв, у 15 — отсутствие раннего вирусологического ответа).

При детальном рассмотрении изменений содержания ПОЛ до и после завершения ПВТ, а также у пациентов, не ответивших на ПВТ, вы-

явлены следующие закономерности (см. табл. 2).

Уровень содержания продуктов ПОЛ как до начала, так и после проведения ПВТ был повышен по сравнению с группой здоровых (p < 0,01). У пациентов, не получивших ПВТ в полном объёме из-за отсутствия раннего вирусологического ответа или в связи с вирусологическим прорывом, все показатели ПОЛ достоверно были выше по сравнению как со здоровым (p < 0,001), так и с пациентами из других групп (p < 0,01).

Выявлено, что у всех обследуемых больных ХГС как до начала, так и после ПВТ количество диеновых конъюгатов было достоверно выше нормы. Содержание диеновых конъюгатов в мембранах эритроцитов больных ХГС до начала ПВТ находилось в прямой зависимости от активности АЛТ в сыворотке крови. У пациентов с повышением активности АЛТ более чем в 2-3 раза уровень диеновых конъюгатов был значительно повышен и составлял от 0,89 до 1,02 отн.ед. По нашим данным, в группе здоровых содержание триенкетонов было значительно ниже (p < 0,01), чем у больных ХГС во всех группах с повышенной активностью АЛТ. При этом уровень вторичных продуктов ПОЛ у больных ХГС, не ответивших на ПВТ, был достоверно выше аналогичных показателей у больных до начала ПВТ и в группе с непосредственным вирусологическим ответом (0,94±0,09 против 0,74±0,11 и 0,48±0,13 отн.ед. соответственно, p < 0,01).

Зарегистрировано увеличение содержания оснований Шиффа у больных ХГС, при этом максимальный показатель конечных продуктов ПОЛ (0,41±0,04 отн.ед. при норме 0,15±0,05 отн.ед., p < 0,01) соответствовал выраженной активности АЛТ (более 5 норм). До начала ПВТ у пациентов с ХГС выявлено повышение оснований Шиффа почти в 2 раза и установлено снижение их уровня после завершения ПВТ. Однако максимальное

значение оснований Шиффа ($0,51 \pm 0,05$ отн.ед.) зафиксировано в группе больных, не ответивших на ПВТ.

Содержание двойных связей в исследуемом образце характеризовалось индексом окисленности. Данный показатель также значительно изменялся в зависимости от выраженности синдрома цитолиза у обследованных больных, составив $0,91 \pm 0,13$ отн.ед. при нормальных значениях АЛТ и $1,91 \pm 0,03$ отн.ед. при АЛТ более 5 норм в сыворотке крови. Это указывало на тот факт, что при хроническом воспалительном процессе вследствие снижения эффективности окислительного фосфорилирования включаются компенсаторные механизмы и активизируется электронный транспорт через альтернативные пути. Индекс окисленности у пациентов, не ответивших на ПВТ, был зарегистрирован как максимально выраженный и составил $1,61 \pm 0,12$ отн.ед., что достоверно отличалось от здоровых ($0,51 \pm 0,06$ отн.ед., группы пациентов до начала терапии — $1,48 \pm 0,14$ отн.ед., группы больных после её завершения — $0,88 \pm 0,16$ отн.ед., $p < 0,01$).

Учитывая патогенетическую значимость дисбаланса окислительной и антиоксидантной систем в обеспечении общего гомеостаза организма, при прогрессировании хронического заболевания важно своевременно диагностировать проявления окислительного стресса и эффективно корректировать их с помощью проводимой комплексной терапии.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом С отмечено повышение содержания про-

дуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах.

2. Высоким значениям активности аланин-аминотрансферазы соответствовали более выраженные изменения содержания продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах.

3. После завершения противовирусной терапии содержание продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах у больных хроническим гепатитом С снизилось, но не нормализовалось.

4. Повышенное содержание продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах у пациентов с хроническим гепатитом С, не ответивших на противовирусную терапию, может служить одним из предикторов неэффективности проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин Т.В., Шульпекова Ю.О., Лукина Е.А. и др. Система цитокинов у больных хроническими диффузными заболеваниями печени // Иммунология. — 2001. — №1. — С. 46–49. [Ivashkin T.V., Shulpekova Yu.O., Lukina E.A. et al. Cytokines system in patients with chronic diffuse diseases of the liver. *Immunologiya*. 2001; 1: 46–49. (In Russ.)]
2. Мансуров Х.Х., Мироджов Г.К., Мансурова Ф.Х. и др. Хронические гепатиты вирусной этиологии (клиника, диагностика и лечение) // Пробл. ГАЭЛ. — 2002. — №2. — С. 17–32. [Mansurov Kh.Kh., Mirodzhov G.K., Mansurova F.Kh. et al. Chronic viral hepatitis (clinical picture, diagnosis and treatment). *Problemy GAEL*. 2002; 2: 17–32. (In Russ.)]
3. Alberti A., Vario A., Boccatto S. et al. Metabolic cofactors play an important role in fibrosis progression in initially mild chronic hepatitis C // *Hepatology*. — 2002. — Vol. 36. — P. 195–200.
4. Seeff L.B. Natural history of chronic hepatitis C // *Hepatology*. — 2002. — Vol. 36, suppl. 1. — P. 35–46.

УДК 378.046.4: 614.23: 616.98 (470.23-25)

Н006

ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПО ВИЧ-МЕДИЦИНЕ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Аза Гасановна Рахманова, Елена Борисовна Ястребова*

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, г. Санкт-Петербург

Реферат

Приведены этапы становления кафедры социально значимых инфекций: с момента открытия курса лабораторной диагностики синдрома приобретённого иммунодефицита (СПИДа) при кафедре инфекционных болезней, научно-учебно-практического объединения «СПИД и СПИД-индикаторные болезни» в Медицинской академии последипломного образования (ныне Северо-Западный медицинский университет), утверждённого приказом МЗ СССР №467 в 1987 г., которое в 1992 г. перешло под юрисдикцию России, руководителем которого была профессор А.Г. Рахманова, до создания кафедры в Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. И.П. Павлова. В конце 90-х годов и начале нынешнего века кафедра инфекционных болезней с курсом лабораторной диагностики СПИДа была практически единственной в стране по подготовке кадров по инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции), лабораторной диагностике и другим сопутствующим заболеваниям. В результате работы научно-учебно-практического объединения «СПИД и СПИД-индикаторные болезни» в течение 20 лет и более были подготовлены научные кадры по проблеме ВИЧ-медицины и сопутствующим ей социально значимым инфекциям. В рамках этой работы подготовлены более 25 докторов и 60 кандидатов наук, преподающих в настоящее время ВИЧ-медицину и сопутствующие коинфекции: хронические вирусные гепатиты, туберкулёз, герпес и другие заболевания в России и странах бывшего постсоветского пространства. Следующим этапом стало открытие в 2009 г. курса «ВИЧ-медицина» в Первом Санкт-Петербургском