© Граматюк С.М.
УДК 616.36-002. – 022 – 008.9:(612.826.33.015.22 + 577.112.853 + 546.172.6)

ДИНАМІКА ПАРАМЕТРІВ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО ГОМЕОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ С*

Граматюк С.М.

Харківська медична академія післядипломної освіти

В современных условиях внимание клиницистов привлекают вопросы нарушений в системе гомеостаза у больных хроническим вирусным гепатитом С, что объясняется определенным прогрессом знаний в этой области и новыми возможностями распознавания и лечения различных видов этой патологии. Цель исследования – изучение динамики показателей внутриклеточного гомеостаза у больных хроническим вирусным гепатитом С. Результаты проведенных исследований выявили глубокие нарушения обмена ионов металлов у больных хроническим вирусным гепатитом С. В сыворотке крови – отмечалось достоверное ($p \leq 0,05$) повышение железа, меди, цинка, калия, натрия, кальция и снижение ионов магния; в эритроцитах – наблюдалось повышение кальция, магния, натрия, меди и снижение калия, цинка и железа. Установленые нарушения у пациентов с хроническим гепатитом С свидетельствуют о полисистемных структурно-метаболических изменениях и нарушениях внутриклеточного гомеостаза и как следствие развитие при хроническом вирусном гепатитом С мембранной патологии.

Ключевые слова: гомеостаз, хронический вирусный гепатит С, ионы металлов

Вірусний гепатит С (HCV) є однією з основних причин захворювань печінки як у цілому світі, так і в Україні, включаючи цироз та гепатоцелюлярну карциному, для лікування яких необхідна трансплантація органів [1].

Вірус гепатиту С (VHC) був відкритий у 1989 році. З того часу він постійно стимулює вчених до подальшого його вивчення. Широке розповсюдження хронічного вірусного гепатиту С (ХВГС) як одного із результатів інфікування VHC й особливості самого вірусу породжують велику кількість медичних і загальноклінічних проблем: недосконала діагностика гепатиту С; відсутність вакцинації; лікування хворих з цією патологією [2, 3].

Вірусний гепатит С є РНК-вмісним вірусом із родини Flaviviridae, має 6 генотипів і більше 50 субтипів. Нуклеотидні послідовності генотипів різняться в діапазоні 30–50 %. VHC має виражені мутаційні властивості. Відсутність активної Т-клітинної імунної відповіді призводить до високої частоти формування хронічної інфекції. Генетична гетерогенність VHC створює діагностичні та клінічні труднощі, ускладнює створення вакцин і ефективних лікувальних препаратів. Для генотипу 1, що в більшості випадків є причиною гепатиту С як у Європі, так і в США, є характерною дуже низька відповідь на проведене лікування [1–3].

В сучасних умовах увагу клініцистів привертають питання порушень в системі гомеостазу у хворих на хронічний вірусний гепатит С, що пояснюється певним прогресом знань в цій області та новими можливостями розпізнавання та лікування різноманітних видів цієї патології у людини.

За даними Атамана О.В. всі показники внутрішньоклітинного гомеостазу можна поділити на три групи: 1. Ті що підтримуються системами організму (температура, напруга кисню та осмотичний тиск) 2. Ті, що їх тпідтримують системи організму і частково сама клітина (pH, концентрація глюкози та інших енергетичних субстратів) 3. Ті, що їх підтримує сама клітина (концентрація іонів Na, K, Ca вміст макроергічних сполук, метаболітів [12].

У сучасній клінічній практиці недостатньо обґрунтовані метаболічні критерії оцінки ендогенної інтоксикації у хворих на хронічний гепатит С, що передбачає динамічні зміни та оптимізацію патогенетичної терапії.

Отже для розширення розуміння глибинних патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації, удосконалення діагностики та прогнозування подальшого стану пацієнтів з хронічним перебігом гепатиту С ми поставили мету.

Мета дослідження – вивчення динаміки показників внутрішньоклітинного гомеостазу у хворих на хронічний вірусний гепатит С.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 73 хворих на хронічний вірусний гепатит С, які проходили планове обстеження у Медико Діагностичному центрі АСК-Хелс м.Харків. Усім хворим проводили типування вірусного геному, встановлено наявність 3 генотипів HCV-інфекції: 3а генотип було діагностовано у 13 пацієнтів, 2 генотип – 11, найбільшу групу склали пацієнти з 1b генотипом вірусу – 49. Контрольну группу скали 20 практично здорових осіб, які не маюли в анамнезі хвороб печінки.

Етіологію захворювання встановлювали на підставі виявлення репликативної активності в сироватці крові RNA HCV якісним та кількісним методом ПЛР із використанням набору тест-систем ELISA kit виробництва США, згідно з інструкцією виробника на ПЛР аналізаторі BIO rad.

Программа дослідження включала визначення вмісту мікроелементів Cu, Fe, Zn та макроелементів

* *Цитування при атестації кадрів: Граматюк С.М. Динаміка параметрів внутрішньоклітинного гомеостазу у хворих на хронічний вірусний гепатит С // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 3-4. – С. 6–9.*

K, Na, Ca, Mg у сироватці крові та еритроцитах, а також визначення білків гострої фази гаптоглобіну та церулоплазміну.

Визначення мікро та макроелементів проводили на біохімічному аналізаторі А15, Іспанія, з використанням інструкції виробника.

Церулоплазмін визначався загальноприйнятим методом за H.A. Ravin, суть якого грунтується на окисленні р-фенілендіаміну церулоплазміном. Ферментативна реакціязупинялась при додаванні фтористого натрію. Рівень церулоплазміну визначали на підставі оптичної щільності продуктів реакції.

Вміст гаптоглобіну в сироватці крові досліджували за методом, запропонованим О.Г. Архіповою, суть якого полягає в тому, що гаптоглобін утворює з гемоглобіном комплекс, який осідає при додаванні ривanолу. За рівнем гемоглобіну, що залишився в розчині, фотометрично визначали вміст гаптоглобіну в сироватці крові.

Всі дослідження було проведено згідно всіх норм з етики та по стандартним операційним процедурам затвердженним у Медико Діагностичному центрі АСК-Хелс.

Статистична обробка даних проводилася 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 Стьюдента-Фішера в репрезентативних вибірках, метод кореляційних структур.

Результати та їх обговорення

Вивчення динаміки показників клітинного гомеостазу у хворих на хронічний вірусний гепатит С виявило зміни в обміну іонів $Ca2^{+}$, достовірне підвищення їх концентрації в сироватці крові на 27%. В еритроцитах зазначалося незначне збільшення іонів $Ca2^{+}$, що становило (0,67±0,11 ммоль/л), в порівнянні з групою контролю. Така динаміка іонів кальцію в досліджуваних біологічних об'єктах, сироватці крові та еритроцитах, може відображати порушення структурно-метаболічних процесів, які пов'язані в основному з мобілізацією, перерозподілом і виведенням даного елемента з організму. Вміст іонів магнію мало протилежну спрямованість динаміки обміну іонів кальцію. Так, концентрація іонів $Mg2^{+}$ в сироватці крові знижувався на 48,1% тоді як в еритроцитах магній підвищувався на 24,5%, відповідно, що мало достовірну різницю між групами. З огляду на важливу кофакторную функцію іонів магнію і участь їх в забезпеченні ферментативних реакцій анаеробного окислення глюкози, слід полагать, що їх підвищення в еритроцитах може бути пов'язано з посиленням активності анаеробного шляху добування енергії у вигляді АТФ при хронічному вірусному гепатиті С (рис.1).

Отже можна припустити, що у пацієнтів з хронічним вірусним гепатитом С на фоні зростання концентрації АТФ в клітині, змінюється робота калій-натрієвого насоса за рахунок внутрішньоклітинє накопичення магнію, що викликає конформаційні зміни Na^{+} – K^{+}-АТФази. В результаті отриманих результатів дослідження динаміки іонів кальцію і магнію виявлено їх значні зміни, що може бути пов'язано з численними структурно-метаболічними порушеннями і в першу чергу мембранних надмолекулярних структур клітини, що призводять до порушень внутрішньоклітинного гомеостазу у хворих на хронічний вірусний гепатит С.

а)



б)

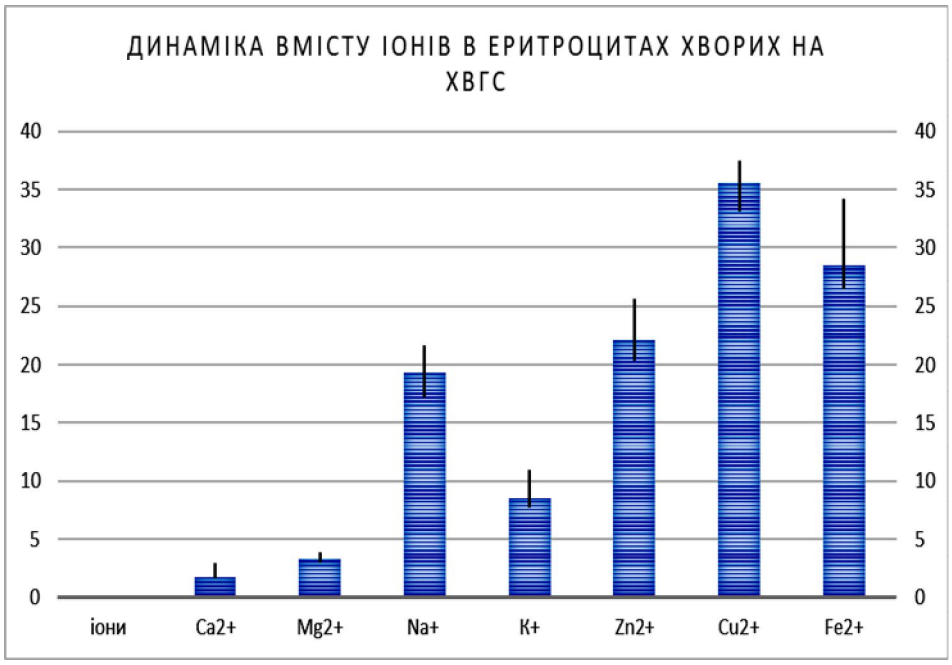


Рисунок 1. Динаміка вмісту іонів в сироватці крові (а) та еритроцитах хворих (б) на хронічний вірусний гепатит С.

Іони Na^+ підвищувалися в сироватці крові і еритроцитах на 14,5% та 9,5% в порівнянні з контрольною групою. Динаміка обміну іонів калію характеризувалася підвищенням їх в сироватці крові на 25,3%, на тлі зниження в еритроцитах крові на 20,7%. Збільшення K^+ в сироватці на 73,3%, вказує на порушення стабільності еритроцитів, що забезпечує надходження в кров K^+ і його виведення з організму хворих на хронічний гепатит С. Спряженість іонів Na^+ і K^+ в еритроцитах, супроводжувалася збільшенням концентрації Na^+ і зниженням K^+. Така динаміка цих іонів неминуче призводить до деполяризації еритроцитарних мембран, затримці іонів Na^+ і втрати K^+, що характеризує порушення їх фізико-хімічних і функціональних властивостей. Ці, факти вказують на порушення транспортної функції плазматичних мембран у хворих з хронічним гепатитом С.

Вивчення обміну Zn2 + виявило достовірне (р 0,005) його підвищення в сироватці крові, відповідно на 34,1% і становив (29,5±0,43ммоль/л) в порівнянні з контрольною групою. В еритроцитах спостерігалося навпаки, достовірне зниження вмісту іонів цинку (16,8±0,51ммоль/л). Дослідження показують, що у хворих на хронічний вірусний гепатит С відбувається істотна втрата іонів цинку. Підвищення рівня цинку в сироватці крові може бути пов'язано зі збільшенням у ній глобулінів з якими він утворює міцні комплекси. Істотну роль в розвитку прояви дефіциту цинку можуть грати структурно-метаболічні порушення біологічних мембран: плазматичної, мітохондріальної, рибосом, лізосом і ін.

Дослідження обміну іонів міді у хворих на хронічний вірусний гепатит С виявило підвищення їх в сироватці крові та еритроцитах, відповідно на 32,1%, 41,6%, в порівнянні з контрольною групою. Мідь бере активну участь в процесах кровотворення, імунних і окислювально-відновлювальних реакціях. У сироватці, вона пов'язана з α2-глобулінами і входить до фракції сироваткової оксидази – церулоплазміну. Збільшення в аналізованих об'єктах іонів міді, може бути пов'язане з активацією кровотворення, імунної системи і окислювальних реакцій, які слід розглядати як фазу адаптації організму в умовах розвитку хронічного гепатиту вірусної етіології.

Вивчення динаміки заліза в органах і тканинах виявило підвищення його концентрації в сироватці крові на 119,4%. В еритроцитах спостерігалося зниження заліза на 11,5%. З огляду на участь заліза у транспорті кисню і процесах клітинного дихання, а також входження до складу гемоглобіну, трансферину, феритину і аналіз динаміки іонів заліза в біологічних об'єктах, дозволяють судити про порушення стабільності еритроцитарних мембран, сполученого з виходом іонів Fe2 + в сироватку крові.

Багато авторів переконують, що важлива роль в забезпеченні мембран динамічною стабільністю відводиться інтеграційним системам контролю гомеостатичної функції організму (нервовою, ендокринною, імунною, ферментативною), що спостерігається у хворих на ХГС [11 – 15, 17].

Основною причиною порушення гомеостазу може бути структурно-метаболічна дезорганізація мембран і як наслідок зміна матеріального, енергетичного і інформаційного балансу клітини, які лежать в основі формування хвороб і розвитку ендогенної інтоксикації [12].

Вивчаючи стан системно- антисистемної взаємодії вірусу гепатиту С, що володіє мембранотропною дією виявлено порушення активності ферментів антирадикального захисту на тлі зменшення показників трансферину (табл.1). При вивченні показників вмісту церулоплазміну визначенно, що вони перевищують контрольні значення у 2,5 рази у всіх групах хворих. Однак спостерігається низький рівень трансферину та гаптоглобіну на висоті інтоксикації з нормалізацією симптомів прояву в період ремісії. Низьке значення трансферину на висоті інтоксикації підвищується до періоду ремісії й але вірогідно відрізняється від контрольних значень (табл.1).

Таблиця 1

Динаміка вмісту білків гострої фази – гаптоглобіну, трансферину і церулоплазміну у хворих на вірусний гепатит С.

Групи хворих на гепатит С	Церулоплазмін ммоль/л	Гаптоглобін г/л	Трансферрин мг/л
Хронічний вірусний гепатит С (n =73)	3,112±0,44	*0,211±0,026↓	*2,11±0,26 ↓
Контрольна група (n =20)	2,335±0,65	0,335±0,065	3,5±0,5

Примітка: ** – достовірна відмінність від норми*

Практично не встановлено змін в динаміці досліджуваних показників в залежності від форми захворювання. Аналіз вмісту білків гострої фази – гаптоглобіну, трансферину і церулоплазміну, виявив значні їх відмінності залежно від генотипу вірусу. Так найбільші зміни спостерігались , у хворих з генотипом 1b, гаптоглобін в сироватці крові зменьшувався на 26%, у хворих з генотипом 3а на 14%, від значень контрольної групи. Зменьшення в сироватці крові гаптоглобіну у хворих на хронічний вірусний гепатит С, можна розглядати як напруження адаптаційних механізмів забезпечення гомеостазу організму. Церулоплазмін підвищувався на 23,6%; 48% та 19,6% відповідно у хворих з генотипом 3а, 1b та 2. Зниження рівня гаптоглобіну у хворих на хронічний гепатит С, може вказувати на мембранну патологію.

Таким чином, результати проведених досліджень виявили глибокі порушення обміну іонів металів у хворих ХВГС. У сироватці крові – відзначалося підвищення заліза, міді, цинку, калію, натрію, кальцію і зниження іонів магнію; в еритроцитах – спостерігалося підвищення кальцію, магнію, натрію, міді і зниження калію, цинку та заліза, що свідчить про полісистемні структурно-метаболічні зміни та порушення внутрішньоклітінного гомеостазу, як наслідок розвиток при хронічному вірусному гепатіті С мембранної патології.

Перспективи подальших досліджень

Визначити закономірності порушення енергозабезпечення як механізм ушкодження клітин у хворих на хронічний вірусний гепатит С.

Литература

1. Мороз Л.В. 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.
2. Войнар А.И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека / А.И. Войнар // – М: Высшая школа. – 1980 – 312с.
3. Ещенко В.А. Блокирование цинка как возможная причина клеточной альтерации // Архив патологии. – 1990 №9. – с. 86-88.
4. Clausznitzer D., Harnisch J. Multi-scale model for hepatitis C viral load kinetics under treatment with direct acting antivirals.// Virus research. – 2016. – Vol. 218. – P.96–101. doi: 10.1016/j.virusres.2015.09.011
5. Poordad F. Daclatasvir with sofosbuvir and ribavirin for hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence. / Poordad F., Schiff E.R., Vierling J.M., Landis C., Fontana R.J., Yang R.// Hepatology. – 2016. – Vol. 63(5). – P.1493–1505. doi: 10.1002/hep.28446.
6. Репин В.С. Критические факторы химической регуляции развития / В.С. Репин // Медицина. – М.: 1980 – 246с.
7. Кузьмин С.Д. Биохимия митотического цикла опухолевых клеток / С.Д. Кузьмин // Київ. – Наукова думка.- 1984. – 172с.
8. Tanase C.P. Caveolin – 1: a marker for pancreatic cancer diagnosis // Expert. Rev. Mol. Diagn. – 2008. – Vol. 8, N4. – P. 395 – 404.
9. Быць Ю. В. Сравнительно-патофизиологические аспекты энергообеспечения сосудистой стенки / Ю. В. Быць, В. П. Пишак, А. В. Атаман. — Киев-Черновцы: Прут, 1999. — 330 с.
10. Золотов Ю.А. Концентрирование микроэлементов / Ю.А. Золотов, Н.М. Кузьмин // Київ. Наукова думка, 1984. – 283 с.
11. Лойко Е.А. Спектрохимическое определение микроэлементов в сиворотке и моче / Е.А. Лойко // Лаб. Дело. – 1967. – №7. – с.403-406.
12. Атаман О. В. Артеріосклероз Менкеберга. Історичний нарис / О. В. Атаман. — Суми: Вид-во СумДУ, 2010. — 86 с.