

ВЗАИМОСВЯЗЬ МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ С ВИРУСНОЙ НАГРУЗКОЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С

Щёктова А.П.

*ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия имени академика
Е.А. Вагнера, Пермь
Пермь, Россия (614090, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26) psmalf@ru*

У 40 пациентов с хроническим гепатитом определяли маркеры дисфункции эндотелия, фиброза печени методом иммуноферментного анализа, оценивали уровень вирусной нагрузки. Вирусемия оказалась достоверно взаимосвязана с показателями повреждения эндотелия: чем выше уровень вирусной нагрузки, тем больше десквамация эндотелия и выработка васкулоэндотелиального фактора роста, который запускает процессы неоангиогенеза и способствует перестройке сосудистой архитектоники печени. Выявлены сильные взаимосвязи между вирусемией и маркерами фиброза печени: гиалуроновая кислота коррелирует с вирусной нагрузкой и соотношением аспарагиновая трансаминаза/аланиновая трансаминаза. Таким образом, чем выше уровень вирусной нагрузки, тем больше поражение эндотелия и активнее процессы выработки соединительной ткани в печени при хроническом вирусном гепатите С.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, фиброз печени, вирусная нагрузка.

CORRELATION BETWEEN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, HEPATIC FIBROSIS MARKERS AND VIRAL LOAD IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

Schekotova A.P.

Perm State Academy of Medicine named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia

Material and methods. We examined of 40 patients with chronic viral hepatitis C in the phase of reactivation. Using ELISA method the total nitric oxide, endothelin-1, vasculoendothelial growth factor (VEGF) levels were investigated, blood plasma desquamated endotheliocyte (DEC) number was calculated with Hladovec method (1978), level of viral load, hyaluronic acid (HA), asparaginic transaminase to alanine transaminase (AST/ALT) ratio were determined.

Results. Virusemia appeared to be reliably correlated with the indices of endothelial lesion: the higher is the level of viral load, the greater is DEC ($p=0,045$) and production of VEGF ($p=0,001$) which, in its turn, triggers the processes of neoangiogenesis and promotes reconstruction of the vascular architectonics of the liver. Strong correlation between viremia and hepatic fibrosis markers was revealed: HA correlates with the viral load ($p=0,0015$) and AST/ALT ratio ($p=0,007$), thus, the higher is the viral load, the more actively the processes of connective tissue production in the liver are triggered.

Conclusion. In patients with chronic viral hepatitis C correlation between endothelial lesion markers, hepatic fibrosis evidence and level of viral load is detected.

Key words: endothelial dysfunction, hepatic fibrosis, viral loading.

Введение. В индустриально развитых странах вирус гепатита С является причиной развития у 70 % больных хронического гепатита, противовирусное лечение оказывается не всегда эффективно [3,4]. В патогенезе хронического вирусного гепатита С (ХГС) и прогрессировании его в цирроз печени большое значение имеет нарушение внутрипеченочной гемодинамики, что может быть связано с повреждением

эндотелиальной выстилки печеночных синусоидов непосредственно вирусом и развития эндотелиальной дисфункции (ЭД) [1]. При воздействии вируса на эндотелий синусоидов печени способность эндотелиальных клеток освобождать релаксирующие факторы уменьшается, тогда, как образование сосудосуживающих факторов увеличивается, снижается барьерная функция эндотелия и повышается его проницаемость для провоспалительных цитокинов, нарушается биодоступность оксида азота (nitric oxide, NO) как одного из факторов противовирусной защиты. При тяжелом поражении эндотелия нарушается его целостность и в интима появляются участки, лишенные эндотелиальной выстилки. Процессы прогрессирования поражения печени, в частности, неоангиогенез и фиброз в печени, в свою очередь, связаны с функциональной состоятельностью эндотелия [8]. Таким образом, эндотелий играет ключевую роль в патогенезе вирусных поражений печени.

Среди прямых лабораторных маркеров фиброза печени большой информативностью обладает гиалуриновая кислота (ГК) [7]. Непрямой рутинный тест – соотношение аспарагиновая трансаминаза / аланиновая трансаминаза (АСТ/АЛТ) более 1 предполагает наличие цирроза. При инфекции вирусом гепатита С соотношение более 1 имеет 100 % специфичность как позитивный предиктор для дифференциации пациентов с циррозом и без цирроза печени, чувствительность составляет 53,2 %, специфичность соотношения АСТ/АЛТ как негативного предиктора – 80,7 %. Хотя при алкогольной болезни печени еще до развития цирроза соотношение АСТ/АЛТ >1 [5]. Уровень вирусной нагрузки (ВН) является тестом оценки прогноза и мониторинга эффективности противовирусной терапии. О влиянии уровня ВН на прогнозирование течения заболевания существуют противоположные мнения, в некоторых исследованиях выявлено, что более высокий уровень виремии коррелирует с более серьезным повреждением печени [6].

Взаимосвязь маркеров ЭД и фиброза печени с уровнем ВН при ХГС практически не изучена.

Цель исследования – оценить взаимосвязи маркеров состояния эндотелия, фиброза печени и уровня вирусемии у больных с ХГС.

Материалы и методы. Обследовано 40 пациентов с ХГС в фазе реактивации, мужчин было 58 %, женщин – 42 %. Критерии исключения – заболевания и состояния, сопровождающиеся выраженной ЭД: сердечно-сосудистые заболевания (атеросклероз, ИБС, артериальная гипертензия, аритмии, инсульты в анамнезе), сахарный диабет, бронхиальная астма, онкологические заболевания, беременность. Средний возраст больных ХГС составил $38,8 \pm 14,5$ лет. Контрольная группа состояла из 15 практически здоровых лиц, не имеющих в анамнезе заболеваний печени, возраст – $32,8 \pm 8,3$ года.

Помимо общеклинического и инструментального обследования (УЗИ), определения серологических маркеров ХГС (анти - HCV Jg G и M), проведено исследование уровня ВН методом ПЦР in real time (HCV – РНК) у 28 больных (Rotor Gene, Австралия). По генотипам вируса пациенты в группе больных ХГС распределились следующим образом: 50 % пациентов имели 1b генотип HCV, у 17 % больных – 3a генотип, 11 % больных имели сочетание 1a и 1b генотипа, у 11 % пациентов – сочетание 1b и 3a генотипов, у 11 % – 2 генотип. Изучались тесты оценки функционального состояния эндотелия в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА): общий NO (SYSTEMS, США), эндотелин-1 (endothelin-1, Et-1) (BIOMEDICA CRUPPE, США), васкулоэндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF) (Вектор-Бест, г. Новосибирск). Проводили подсчет количества десквамированных эндотелиоцитов (ДЭЦ) в плазме крови по методу Hladovec, 1978 г. [2]. Определяли ГК в сыворотке крови с помощью набора BSM Diagnostics (США) методом ИФА.

Результаты обработаны при помощи пакета программ Statistica 6.0 Microsoft и Office Excell 2003. Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Для описания полученных количественных признаков, имеющих нормальное распределение, использовалось среднее арифметическое (M) \pm одно среднее квадратичное стандартное отклонение (σ). Для корреляционного анализа применялся расчет средних величин показателей корреляционных отношений для количественных признаков по Пирсону (r). Связь между показателями оценивалась как сильная при $r > 0,7$, средней силы – при r от 0,3 до 0,7, слабая – при $r < 0,3$. Различия между выборками считались статистически достоверными при значении для $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. У обследованных пациентов были выявлены признаки поражения эндотелия по всем исследованным маркерам. Лабораторные показатели функционального состояния эндотелия и маркеров фиброза при ХГС представлены в таблице №1. При ХГС выявлено снижение по сравнению со здоровыми концентрации в крови высокоспецифичного маркера эндотелиальной дисфункции – NO ($p=0,001$), увеличение Et-1 ($p<0,001$), что указывает на дисбаланс вазоактивных соединений и нарушение кровообращения в печени. Повышены показатели ДЭЦ ($p<0,001$) и VEGF ($p=0,01$), относящиеся собственно к маркерам повреждения эндотелия, что свидетельствует о слущивании эндотелиоцитов и неоангиогенезе, активатором которого является VEGF.

Таблица 1

Маркеры функционального состояния эндотелия и фиброза печени у больных ХГС

Показатели	Контрольная группа (n=15)	ХГС (n=40)	p
NO, мкмоль/л	29,43±3,34	18,7 ± 3,02	0,001
Et-1, фмоль/л	0,3±0,13	0,62±0,20	<0,001
ДЭЦ, 10 ⁴ /л	3,02±1,21	7,3 ± 4,0	<0,001
VEGF, пг/мл	158,7±72,8	249,5±94,5	0,01
ГК, нг/мл	17,8±17,0	70,38±52,8	0,02
АСТ/АЛТ	0,8±0,12	0,83±0,4	0,1

Примечание: p – значимость различий в сравниваемых группах.

Между исследованными маркерами ЭД: NO, Et-1, VEGF и ДЭЦ выявлены достоверные взаимосвязи, что свидетельствует о системном повреждении эндотелия при ХГС (табл. 2).

Таблица 2

Взаимосвязи маркеров ЭД при ХГС

Исследуемые показатели	ХГС (n=40)	
	r	p
NO и Et-1	- 0,91	0,00001
NO и ДЭЦ	- 0,57	0,003
Et-1 и ДЭЦ	0,76	0,00004
ДЭЦ и VEGF	0,61	0,015

Примечание: r – взаимосвязь показателей в группе больных ХГС; p – значимость корреляции показателей.

Таким образом, при ХГС дисфункция и поражение эндотелия являются облигатным компонентом патогенеза вирусного поражения печени.

Показатели фиброза демонстрировали следующие изменения: концентрация ГК была достоверно повышена при ХГС (p=0,02), коэффициент де Ритиса (соотношение АСТ/АЛТ) при ХГС не отличался от группы контроля (табл. 1). ГК является прямым высокоспецифичным маркером фиброза печени, в группе больных она повышена в среднем в 4 раза, что свидетельствует об активации фиброза при ХГС, рутинный тест – соотношение АСТ/АЛТ оказался менее чувствительным маркером фиброза. У ряда пациентов с ХГС соотношение АСТ/АЛТ было выше 1, но в этих случаях нельзя исключить дополнительное, помимо вируса, влияние алкоголя на гепатоциты, так как почти 40 % пациентов употребляли спиртные напитки.

Уровень ВН у больных в 76 % был высокий и составил в среднем $8,9 \pm 2,06 \cdot 10^6$ копий/мл ($M \pm m$), $Me - 5,3$, $min - 1$, $max - 45$. У 24% ВН была низкой: от 1 до $2 \cdot 10^6$ копий/мл. При проведении корреляционного анализа уровня ВН, маркеров функционального состояния эндотелия и фиброза печени выявлены следующие взаимосвязи показателей (табл. 3). Вирусемия достоверно коррелировала с показателями повреждения эндотелия, то есть, чем выше уровень ВН, тем больше десквамация эндотелия ($p=0,045$) и выработка VEGF ($p=0,001$), который в свою очередь запускает процессы неангиогенеза и способствует перестройке сосудистой архитектоники печени. Взаимосвязей показателей NO и Et-1 с ВН выявить не удалось.

Таблица 3

Взаимосвязь уровня ВН, показателей функционального состояния эндотелия и маркеров фиброза печени при ХГС

Показатели	ХГС (n=24)	
	r	p
ВН и NO	-0,29	0,2
ВН и Et-1	0,34	0,3
ВН и ДЭЦ	0,6	0,045
ВН и VEGF	0,9	0,001
ВН и ГК	0,99	0,0015
ВН и АСТ/АЛТ	0,93	0,007
ГК и NO	-0,85	0,01
ГК и Et-1	0,74	0,02
ГК и VEGF	0,5	0,01
АСТ/АЛТ и NO	0,44	0,03
АСТ/АЛТ и Et-1	0,9	0,004
АСТ/АЛТ и ДЭЦ	0,88	0,001
АСТ/АЛТ и VEGF	0,4	0,02

Примечание: r – взаимосвязь показателей; p – значимость корреляции показателей.

Выявлены сильные взаимосвязи между вирусемией и маркерами фиброза печени: уровень ВН достоверно коррелирует с ГК ($p=0,0015$) и соотношением АСТ/АЛТ ($p=0,007$). Таким образом, чем выше вирусная нагрузка, тем активнее запускаются процессы выработки рубцовой соединительной ткани в печени. Поражение эндотелия в этом процессе играет непосредственное участие, прежде всего, через Et-1, который

активирует звездчатые клетки печени, вырабатывающие грубую соединительную ткань. Это подтверждается и достоверными взаимосвязями между маркерами фиброза и поражения эндотелия: отрицательной корреляцией ГК и NO и положительными взаимосвязями ГК с Et-1, VEGF. Аналогичные достоверные корреляции выявлены и при изучении взаимосвязей отношения АСТ/АЛТ и NO, Et-1, ДЭЦ, VEGF. Таким образом, поражение эндотелия при ХГС непосредственно участвует в патогенезе ХГС и прогрессировании поражения печени в виде развития фиброза при инфекции вирусом гепатита С.

Выводы

1. У больных ХГС имеет место дисфункция и повреждение эндотелия, что характеризуется снижением NO, повышением Et-1, ДЭЦ, VEGF, при этом маркеры ЭД тесно взаимосвязаны между собой.
2. Показатели поражения эндотелия у пациентов с ХГС коррелируют с выраженностью фиброза в печени по концентрации ГК и соотношению АСТ/АЛТ.
3. Степень повреждения эндотелия и фиброза печени при ХГС взаимосвязана с уровнем вирусемии.

Список литературы

1. Звягинцева Т.Д., Гриднева С.В. Современные представления о сосудистом эндотелии в норме и при патологии желудочно-кишечного тракта // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2005. № 4. С. 6–12.
2. Петрищев Н.Н., Беркович О.А. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиоцитов в крови. Клини. лаб. диагностика. 2001. №1. С. 50 – 52.
3. Berkes J. Global epidemiology of HCV infection // Curr. Hep. Rep. 2005. V. 4 (4). P. 125 – 129.
4. Chevaliez S. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and monagement of antiviol therapy // World J. Gastroenterol. 2007. № 13 (17). P. 2461 – 2466.
5. Giannini E., Risso D., Botta F. Et al. Validity clinicalutility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease // Arch. Intern. Med. 2003. 163. 218-224.
6. Gretch D. et al., 1994). Gretch D., Corey L., WilsonJ. et al. Acesment of hepatitis C virus RNA levels by quantitative competitive RNA polymerase chain reaction: high-titer viremia correlates with advanced stage of disease // J. Infect. Dis. 1994. V.I 69. P.1219-1225.
7. Saitou Y., Shiraki K., Yamanaka Y., et al. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease // World J Gastroenterol 2005;11(4):476-81.

8. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis // J Pathol 2008. Vol. 21(4). P. 199–210.

Рецензенты:

Устинова О.Ю., д.м.н., профессор кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности Пермского государственного национального исследовательского университета, г. Пермь.

Гейн С.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УРО РАН, г. Пермь.