

**EVALUAREA CITOCROMULUI P450 LA PACIENȚII CU HEPATITĂ CRONICĂ VIRALĂ C ÎN FUNCȚIE DE ACTIVITATEA PROCESULUI INFLAMATOR HEPATIC (ÎN BAZA SINDROMULUI DE CITOLIZĂ) ȘI INFECȚIEI VIRALE**

**Natalia Taran – cercet. șt., dr. șt. med.,  
Vlada-Tatiana Dumbrava – prof. univ., dr. hab. șt. med.,  
Iulianna Lupasco – conf. cercet., dr. șt. med.,**

**Laboratorul de gastroenterologie,  
IP USMF „Nicolae Testemițanu”  
tel. 022 205539, 079257616, natalita\_taran@yahoo.com**

**Rezumat**

Diverse procese fiziologice și patologice ale organismului influențează nivelul citocromului P450 hepatic. Acțiunea distructivă și reglatoare a monooxigenazelor are o mare importanță în diverse forme de hepatite și fibroze hepatice, procese inflamatoare. Studiul nostru a inclus 48 de pacienți cu hepatite cronice virale C. Pacienții au fost evaluați în funcție de gradul de activitate a procesului inflamator hepatic (în baza sindromului de citoliză) și faza infecției virale. În hepatitele cronice virale C se atestă o concentrație crescută a citocromului P450 comparativ cu persoanele din lotul martor, acesta fiind majorat atât în funcție de gradul de activitate a procesului inflamator hepatic, cât și a procesului viral. Concentrația sporită de citocrom P450 reflectă o reacție compensatorie a organismului la acțiunea îndelungată a procesului inflamator hepatic. În HCV C s-a determinat o corelație directă a citocromului P450 ( $r_{xy}=0,63$ ) cu gradul de activitate a procesului

patologic hepatic și sindromul imuno-inflamator, datorate răspunsului imediat la procesul inflamator și dezechilibrului sistemului antioxidant de protecție a organismului.

**Cuvinte-cheie:** citocrom P450, hepatita cronică virală C, proces inflamator hepatic, faza infecției virale

**Summary. Cytochrome P450 evaluation in patients with chronic viral hepatitis C based on the liver activity of the inflammatory process (based on the cytolysis syndrome) and viral infection**

Various physiological and pathological processes of the body influence the hepatic cytochrome P450. The destructive and regulatory actions of monooxygenases are of great importance in various forms of hepatitis and liver fibrosis, inflammatory processes. Our study included 48 patients with chronic viral hepatitis C. The patients were evaluated according to the activity range of the hepatic inflammatory process (based on cytolysis syndrome) and phase of the viral infection. Chronic viral hepatitis C showed an increased concentration of cytochrome P450 compared to the control group, this being increased both due to the activity of the hepatic inflammatory process as well as the viral process. Increased concentration of cytochrome P450 reflects a compensatory reaction of the body to prolonged action of hepatic inflammatory process. In VHC C there was determined a direct correlation of cytochrome P450 ( $r_{xy}=0,63$ ) with the degree of activity of the hepatic disease process and immuno-inflammatory syndrome, due to the immediate response to the inflammatory process and the imbalance of the body antioxidant protection system.

**Key words:** cytochrome P450, chronic viral hepatitis C, liver inflammatory process, phase of viral infection

**Резюме. Определение цитохрома P450 у пациентов с вирусным гепатитом C в зависимости от активности воспалительного процесса (на основании синдрома цитолиза) и активностью вирусной инфекции**

Различные физиологические и патологические процессы в организме взаимодействуют с количеством цитохрома P450. Деструктивное и регулирующее действие данных монооксигеназ имеет большое значение в различных формах гепатита и фиброза печени, воспалительных процессах. В исследование включены 48 пациентов с хроническим вирусным гепатитом C. Данные пациенты были оценены по степени активности воспалительного процесса (на основе синдрома цитолиза) и фазах вирусной инфекции. При хронических гепатитах C наблюдается повышение концентрации цитохрома P450 по сравнению с лицами контрольной групп. Концентрация цитохрома P450 выявлена выше у больных как с активностью воспалительного процесса так и с уровнем вирусной инфекции. Повышенная концентрация цитохрома P450 отражает компенсаторную реакцию организма на длительное действие воспалительного процесса в печени. При ХГС выявлена прямая корреляционная связь цитохрома P450 со степенью активности воспалительного процесса и иммуно-воспалительным синдромом как следствие незамедлительной реакции на воспаление и наличия дисбаланса в системе антиоксидантной защиты организма

**Ключевые слова:** цитохром P450, хронический вирусный гепатит C, степень воспалительного процесса, фаза вирусной инфекции

**Introducere.** Monooxigenazele citocromului P450 participă în sinteza și în metabolismul importantelor clase de compuși fiziologici – hormonilor steroizi, acizilor biliari, vitaminelor, acizilor grași, prostaglandinelor, însă funcția lor fiziologică de bază o constituie detoxificarea xenobioticelor prin intermediul hidroxilării [13, 15]. În organismul uman citocromul P450 există sub diferite izoforme (la etapa actuală sunt cunoscute mai mult de 400) codate de o diversitate de gene [2, 4, 5].

Una dintre particularitățile esențiale ale enzimelor citocromului P450 constituie oxidarea unui număr enorm de substraturi naturale și practic toate xenobioticele. Aceste enzime sunt divizate în 2 tipuri: *constitutive* și *inductibile*. Cea *constitutivă* se formează independent de condițiile în care se află celula, iar *inductibilă*, este frecvent sintetizată în cantități mai mici, atingând anumite niveluri în prezența substraturilor endogene și exogene [11].

Majoritatea izoformelor citocromului sunt inductibile, adică cantitatea lor în celule se mărește consi-

derabil la apariția substratului. În funcție de predominarea în celulă a uneia sau altei izoforme, poate fi schimbată componența produșilor reacției, în special, raportul dintre activare și detoxificare [7, 16, 17]. Concomitent cu pătrunderea în organism a xenobioticelor, are loc inducția sistemelor monooxigenazice cu sporirea concentrației de citocrom P450 în hepatocite și creșterea activității reacțiilor enzimatică [7]. Biotransformarea xenobioticelor îndeplinește un rol cheie în mecanismele de adaptare a organismului la factorii mediului inconjurător [8, 18]. Ficatul îi se atribuie rolul de filtru biologic în calea administrării toxinelor exogene în circulația sangvină a organismului [7].

Diverse procese fiziologice și patologice ale organismului influențează nivelul citocromului P450 hepatic. Activitatea citocromului P450 depinde de câțiva factori, de exemplu la femei acesta este mai înalt, probabil, datorită deosebirii în statutul hormonal. La copii și vârstnici activitatea acestuia este mai scăzută cu 40% decât la persoanele de vârstă medie,

datorită micșorării masei funcționale a țesutului hepatic [13]. Produsele alimentare pot inhiba activitatea citocromului P450, manifestându-se în unele cazuri ca inhibitori (sucidul, greișul, lăima, unele condimente, spre exemplu imbirul, piperul negru, curcuma), sau inductori ai acestora (unele soiuri de miere). Alcoolul în doze mari se consideră un inhibitor nespecific al citocromului P450, iar în doze mici și medii se pronunță ca inductor [3, 5]. Multiple lucrări demonstrează, că activitatea sistemului monooxigenazic este modificată în ateroscleroză, hipertensiune arterială, hepatite, procese tumorale, stări alergice, infecții bacteriene. O studiere mai minuțioasă a sistemului citocromului P450 a fost efectuată în infecțiile virale și bacteriene [11, 17]. Xenobioticele, pătrunzând în organismul uman, produc inducția sistemului microsomal monooxigenazic, ca rezultat are loc majorarea concentrației citocromului P450 în hepatocite cu mărirea activității reacțiilor enzimatică [3, 4, 6]. Sporirea nivelului de activitate a enzimelor de oxidare microsomală a fost demonstrată în patologia acută a ficatului, în hepatitele reactive [4, 17].

Capacitatea citocromului P450 de generare a metaboliților activi de oxigen permit de a considera această clasă de enzime în calitate de reglatori importanți ai multor funcții celulare și procese patologice. Acțiunea distructivă și reglatoare a monooxigenazelor are o mare importanță în diverse forme de hepatite și fibroze hepatice, procese inflamatoare [3, 18]. În afecțiunile inflamatoare este dereglat echilibrul între procesele pro- și antioxidative. Dacă procesul este nerijat, are loc deprimarea funcției monooxigenaze a citocromului P450. Deprimarea acestei funcții este realizată prin mai multe căi: interferoane, interleukine, activarea sistemului reticulo-endotelial, peroxidarea lipidică. Sistemul citocromului P450 manifestă un rol esențial în menținerea homeostaziei chimice a mediului intern al organismului, luând parte în biotransformarea oxidativă a compușilor chimici și a moleculelor bioreglatoare endogene - endobioticelor [4, 12]. În hepatitele virale, producerea leziunilor hepatocitare este determinată predominant de răspunsul imun și, deși mecanismele fiziopatogenetice sunt complexe și incomplet elucidate, există numeroase date care demonstrează că persistența infecției, progresiunea leziunilor hepatice și carcinogeneza sunt mediate de stresul oxidativ [1, 7, 9]. Ficatul, considerat și centru metabolic al organismului, are un rol important în fagocitoză și procesele imunologice, fiind astfel și o sursă de specii reactive de oxigen. Eliberarea unor cantități crescute de specii reactive de oxigen în ficat intensifică reacțiile de lipoperoxidare hepatică și producerea de mediatori ai inflamației, producând astfel leziuni tisulare.

**Scopul lucrării.** Studiarea concentrației citocromului P450 la pacienții cu hepatite cronice de etiologie virală C în funcție de activitatea procesului inflamator hepatic (în baza sindromului de citoliză) și infecției virale.

**Material și metode.** Materialul clinic a fost selectat în baza secției de hepatologie a Spitalului Clinic Republican, Chișinău, Republica Moldova. Studiul dat a inclus 48 pacienți cu hepatită cronică virală C, cu vârsta medie de  $46,7 \pm 3,47$  ani. Diagnosticul a fost stabilit în baza datelor anamnestice, clinice și paraclinice, inclusiv datelor ecografiei, scintigrafiei, aprecierea markerilor infecției virale B, D și C, ARN VHC prin metoda PCR. Concentrația de citocrom P450 s-a efectuat prin metoda de apreciere a activității p-hidroxilazei după N.Orihovici (1993). Această metodă constă în determinarea vitezei hidroxilării anilinei apreciate după cantitatea de formare a p-aminofenolului.

Lotul martor a fost alcătuit din 29 de persoane practic sănătoase - 58,62% (17) femei și 41,38% (12) bărbați cu vârsta cuprinsă între 18 și 42 de ani, vârsta medie  $30,97 \pm 5,65$  ani, fără anamneză ereditară agravată, în absența patologiei hepatice și gastrointestinale, a bolilor sistemului cardiovascular și a țesutului conjunctiv, a dereglărilor autoimune și endocrine.

**Rezultate și discuții.** În funcție de gradul de activitate a procesului patologic hepatic (în baza sindromului de citoliză) s-a depistat că pentru 72,92% (35) pacienți a fost prezent un grad minim de activitate, pentru 20,83% (10) pacienți un grad moderat de activitate a procesului și  $6,25 \pm 13,9\%$  (3) pacienți cu grad maxim de activitate, iar  $12,50 \pm 13,5\%$  (6) din pacienți au evaluat cu semne de hipertensiune portală. Manifestările clinice la pacienții respectivi au relatat prezența hepatomegaliei în  $87,5 \pm 5,1\%$  (42) pacienți, splenomegalia fiind diagnosticată la  $6,25 \pm 13,9\%$  (3) bolnavi. Printre sindroamele de bază predominau sindromul asteno-vegetativ-  $87,5 \pm 5,1\%$  (42), sindromul algic -  $85,42 \pm 5,5\%$  (41), și sindromul dispeptic -  $68,75 \pm 8,1\%$  (33). Pentru bolnavii cercetați (48) au fost caracteristice prezența unor boli digestive asociate: 31,25% (7) - gastrită cronică, 10,42% (5) - duodenită cronică, 72,90% (35) - colecistită cronică acalculoasă, 47,91% (23) pancreatită cronică.

La persoanele din lotul martor nivelul de citocrom P450 se atestă de  $12,08 \pm 3,34$  mu/l. În lotul pacienților cu HCV C concentrația de citocrom P450 ( $32,56 \pm 1,21$  mu/l) s-a determinat mai sporită versus valorile respective înregistrate la persoanele sănătoase ( $t=5,76$ ;  $p<0,001$ ). Studiarea concentrației de citocrom P450 a relatat o majorare a acesteia atât la persoanele de gen feminin ( $34,60 \pm 10,42$  mm/l), cât și la persoanele de gen masculin ( $26,16 \pm 6,40$  mu/l)

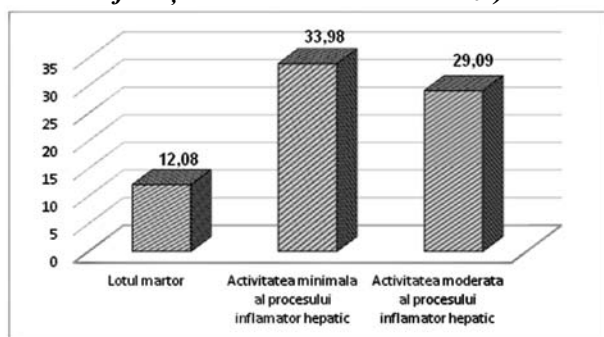
comparativ cu indicii analogici înregistrați la persoanele din lotul martor ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ).

Studierea concentrației de citocrom P450 în funcție de vârstă a relatat o majorare a acestuia atât la persoanele până la 40 de ani ( $27,43 \pm 7,84$  mu/l), cât și după 40 de ani ( $36,54 \pm 13,38$  mu/l) versus indicii respectivi atestați la indivizii sănătoși ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ). La pacienții din lotul dat se atestă o majorare semnificativă a concentrației de citocrom P450 atât la persoanele cu o durată a bolii *mai mare de 5 ani* ( $33,98 \pm 11,51$  mu/l), cât și la pacienții cu o evoluție a bolii *mai mică de 5 ani* ( $31,30 \pm 12,44$  mu/l) versus indicele respectiv înregistrat la persoanele sănătoase ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ).

Pacienții respectivi au fost evaluați în funcție de gradul de activitate a procesului inflamator hepatic (în baza sindromului de citoliză). Cercetarea concentrației de citocrom P450 ( $n=35$ ) ( $33,98 \pm 3,93$  mu/l) la pacienții cu HCV C cu grad minim de activitate a procesului inflamator hepatic se caracterizează printr-o prevalență a acestuia versus datele similare atestate la persoanele din lotul martor ( $p < 0,001$ ). Studierea concentrației de citocrom P450 ( $29,09 \pm 3,87$  mu/l) la pacienții cu grad moderat-maxim de activitate ( $n=13$ ) s-a stabilit la fel crescută comparativ cu datele similare înregistrate la indivizii sănătoși ( $p < 0,01$ ). La bolnavii cu HCV C valoarea citocromului P450 s-a determinat de asemenea majorată atât în *faza de reactivare* a maladiei ( $32,87 \pm 5,72$  mu/l) ( $n=27$ ), cât și în *faza latentă* a infecției ( $32,15 \pm 7,92$  mu/l) ( $n=21$ ) versus valorile similare atestate la persoanele din lotul martor ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ).

Tabelul 1

**Estimarea citocromului P450 la pacienții cu HCV C în funcție de procesul inflamator hepatic (în funcție de sindromul de citoliză)**

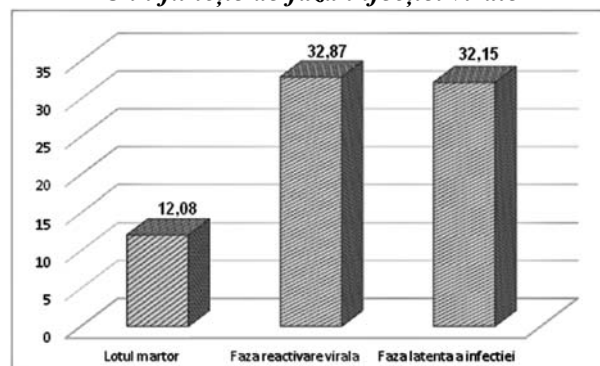


În baza studiului s-au demonstrat interconexiuni de corelare ale indicilor sindromului colestatic cu concentrația de citocrom P450. Concentrația de citocrom P450 corelează direct cu nivelul bilirubinei totale ( $r_{xy} = 0,30$ ) și indirect cu valorile  $\gamma$ -GTP ( $r_{xy} = -0,24$ ). Merită atenție interrelațiile concentrației de citocrom P450 cu indicii sindromului imuno-inflamator. S-a

stabilit o corelare directă a citocromului P450 cu concentrația serică a IgM ( $r_{xy} = 0,34$ ) și Ig G ( $r_{xy} = 0,35$ ). De asemenea s-a stabilit o corelare directă a concentrației de citocrom P450 cu gradul de activitate a procesului inflamator hepatic ( $r_{xy} = 0,33$ ).

Tabelul 2

**Estimarea citocromului P450 la pacienții cu HCV C în funcție de faza infecției virale**



**Discuții.** Analizând cele expuse, s-a demonstrat o corelare directă a concentrației de citocrom P450 cu indicii sindromului imuno-inflamator și gradul de activitate a procesului inflamator hepatic (conform indicilor sindromului citolitic), ce relatează dereglarea proceselor metabolice în ficat cu diminuarea funcției de detoxificare a acestuia. Prin urmare, în rezultatul infecției virale se formează un dezechilibru în organism, se dezvoltă stresul oxidativ, declansat de procesul inflamator hepatic, cu formarea formelor active de oxigen [9, 11, 14]. Însă stresul oxidativ se dezvoltă nu numai sub acțiunea prooxidanților externi, dar și în rezultatul activării mecanismelor endogene generate de formele active de oxigen și în rezultatul diminuării protecției antioxidante [10, 11, 12]. S-a demonstrat, că activarea proceselor de oxidare a radicalilor liberi stau la baza patogenezei multiplelor maladii hepatice virale, iar producerea excesivă a formelor active de oxigen se manifestă în cele mai timpurii stadii ale procesului. Decurgerea și prognosticul evoluției bolii hepatice sunt strâns legate de starea funcțională a sistemului antioxidant al hepatocitelor [6, 8, 14]. Rezultatele primite demonstrează clar, că procesul inflamator hepatic este influențat direct de concentrația citocromului P450: cu cât este mai activ procesul inflamator hepatic, cu atât este mai afectată funcția de detoxificare a ficatului.

Sinteza excesivă a NO în timpul inflamației sau infecției virale manifestă o influență deosebită în reglarea metabolism-dependentă a concentrației de citocrom P450 [1, 2]. În ultimii ani apar multiple lucrări care demonstrează, că xenobioticele, inducând sistemul de citocrom P450, provoacă o hiperproducere a citokinelor proinflamatorii, măresc sensibilitatea

către endotoxinele bacteriene, infecțiile virale, sensibilizează hepatocitele și alte celule către apoptoză [7, 16]. Prin urmare, stabilirea unei corelări directe a concentrației de citocrom P450 cu indicii sindromului imuno-inflamator și gradul de activitate a procesului inflamator hepatic (conform indicilor sindromului de citoliză), demonstrează inevitabil dereglarea proceselor metabolice în ficat cu diminuarea funcției de detoxificare a acestuia la pacienții cu hepatite cronice virale.

### Concluzii:

1. La pacienții cu hepatite cronice virale C, indiferent de vârstă și sex, se atestă o concentrație crescută a citocromului P450.

2. Concentrația sporită de citocrom P450 reflectă o reacție compensatorie a organismului la acțiunea îndelungată a procesului inflamator hepatic.

3. În HCV C s-a determinat o corelație directă a citocromului P450 ( $r_{xy} = 0,63$ ) cu gradul de activitate a procesului patologic hepatic și sindromului imuno-inflamator, datorate răspunsului imediat la procesul inflamator și dezechilibrului sistemului antioxidant de protecție a organismului.

### Bibliografie

- Cardaci S. et al. *Reactive Oxygen Species Mediate p.53 Activation and Apoptosis Induced by Sodium Nitroprusside in SH-SY5Y Cells* Mol. Pharmacol. 2008, Vol.74(5), p. 1234 - 1245.
- Carreras Cecilia Maria and Poderoso Juan José. *Mitochondrial nitric oxide in the signaling of cell integrated responses*. Am J Physiol Cell Physiol 2007, 292: p.1569-1580.
- Gotlieb R. A. *Cytochrome P 450: major player in reperfusion injury*. Arch. Biochem. Biophys. 2003, Vol.420, p.6812-6817.
- Keigo Machida et al. *Hepatitis C Virus Triggers Mitochondrial Permeability Transition with Production of Reactive Oxygen Species, Leading to DNA Damage and STAT3 activation*. J.Virology; 2006, V.80, n.14, p. 7199-7207.
- Kessova A. I., Cederbaum. *CYP2E1: biochemistry, toxicology, regulation and function in ethanol-induced liver injury*. Curr.Mol Med. 2003, Vol.3, p.509-518.
- Reynaert H. et al. *Hepatic stellate cells: role in microcirculation and pathophysiology of portal hypertension*. Gut 2002, Vol.50, p.571-581.
- Sacerdoti D. et al. *Role of cytochrome P450dependent arachidonic acid metabolites in liver physiology and pathophysiology*. J. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2003, Vol. 72 (1-2), p. 51-71.
- Sheweita S. A., Tilmisany A. K. *Cancer and phase II drug – metabolizing enzymes*. Department of bioscience Institute of Graduate Studies Research, Alexandria University, Egipt. Curr. Drug. Metab. 2003, Vol.4, p.45-58.
- Воробьева Е. Н., Воробьев Р. И. *Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения*. Бюллетень СО РАМН. 2005, №4, (118). стр.24-31.
- Дегтярева И. И. и другие. *Современные подходы к лечению хронических токсических и вирусных гепатитов*. J. Mol Pharmacol. 2004, 65, стр.1070-1079.
- Жаворонок Т. В. и другие. *Особенности детоксикации с участием ферментов митохондриального окисления и глутатионзависимых ферментов при псевдотуберкулезе*. Сибирский государственный медицинский университет, г.Томск. Бюллетень сибирской медицины. 2006, №1, стр.16-20.
- Залевская И. Н., Руднева И. И. *Опорные конспекты лекций к спецкурсу Экотоксикология, Биохимические механизмы действия токсических веществ на живые организмы*. Симферополь: ТНУ. 2004, 28 стр.
- Кржечковская В. В. *Мембрансвязанный цитохром b5, роль цитохрома b5 в регуляции активности изоформ цитохрома*. Серия Критические технологии. Мембраны. 2005, № 2 (26), стр.10-22.
- Кузнецова Е. Е. и др. *Митохондриальное окисление в физиологических и патологических процессах*. 2007, 4 (56), стр.170-180. ИЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск).
- Ляхович В. В., Вавилин В. А. *Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях*. Научный центр клинической и экспериментальной медицины. СО РАМН. Новосибирск. Бюллетень СО РАМН. 2005, № 4(118), стр. 7-12.
- Полунина Т. Е. *Лекарственные поражения печени*. Лечащий врач. 2005, №3, стр. 69-72.
- Сибиряк С. В. *Цитокины как регуляторы цитохром P450- зависимых монооксигеназ. Теоретические и прикладные аспекты*. Журнал Цитокины и воспаление. 2003, Т, №2, стр.12-21.
- Симон В. А. *Цитохром P450 и взаимодействие лекарственных веществ*. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002, №6, стр. 25-30.