

CITOCROMUL P 450 LA PACIENȚII CU HEPATITE CRONICE VIRALE MIXTE ÎN DEPENDENȚĂ DE CONȚINUTUL NITRAȚILOR ȘI NITRIȚILOR ÎN ORGANISM

Natalia Taran

Laboratorul Gastroenterologie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Cytochrome P450 in patients with mixed chronic viral hepatitis according to the amount of nitrates and nitrites in organism

The increased enzymes content of cytochrome P450 system in result of induction leads to the increased production of toxic metabolites. The complex exposure of environmental factors (especially nitrates and nitrites), simultaneously with viral infection, alters more profoundly the hepatic detoxification function, through this favoring chronicification of the process. The complex action of environmental factors and viral infection provokes more profound deregulations in hepatic metabolism, favoring the chronicification and unfavorable continuity of the chronic viral hepatitis.

Rezumat

Conținutul majorat de enzime a sistemului citocrom P450 în rezultatul inducției duce către mărirea producerii metaboliților toxici. Expunerea complexă a factorilor de mediu (în special nitrații și nitriții), concomitent cu infecția virală alterează mai profund funcția de detoxicare hepatică, prin aceasta favorizând cronicizarea procesului. Acțiunea complexă a factorilor de mediu și infecția virală provoacă dereglări mai profunde în metabolismul hepatic, favorizând cronicizarea și decurgerea nefavorabilă a hepatitelor cronice virale.

Intensificarea proceselor de producere în agricultură implică folosirea în sol a unei cantități mari de compuși azotici, ce duce la mărirea concentrației de nitrați în produsele obținute. Situația dată provoacă apariția unei noi probleme medico-biologice, legate de creșterea bruscă a presingului nitrato-nitric la om. S-a demonstrat, că administrarea îndelungată a dozelor mici de nitrați are urmări negative la decurgerea gravidității și nașterilor, la dezvoltarea embrionară a fătului, avînd o acțiune toxică generală și embrionară cu deprimarea imunocompetenței mamei și nou-născutului (13, 14). Cantități exagerate a nitraților și nitriților în sol, apă și produse alimentare sînt cauza multor boli, atît la oameni cît și la animale. Necătiînd la publicațiile existente, consacrate acțiunii toxice a acestor compuși, pînă în prezent lipsesc date despre acțiunea lor biologică complexă.

Gradul intoxicării în mare măsură se datorează caracterului structural-metabolic a sistemului de apărare a organismului la care se referă și organele de detoxicare, în deosebi ficatul. Ficatul i se atribuie rolul de filtru biologic în calea administrării toxinelor exogene în circulația sanguină a organismului (1, 7, 14). Prin acțiunea substanțelor chimice, inclusiv a nitraților și nitriților, apar dereglări serioase în metabolismul, funcția și structura ficatului (13, 14). Cercetările actuale confirmă dezvoltarea cancerului hepato-celular în dependență de doza nitraților și acțiunea combinată a lor cu nitrozaminele (1, 3, 5).

Biotransformarea xenobioticelor joacă un rol cheie în mecanismele de adaptare a organismului către factorii mediului inconjurător. Metabolismul xenobiotic constă din doi pași majori în organismul uman. Primul pas prezintă bioactivarea sau biotransformarea mediată prin I fază a enzimelor așa ca monooxigenazele citocromului P450. A II pas implică conjugarea, detoxificarea primară mediată de faza a doua a enzimelor, incluzînd glutatión S-transferazele, UDP-glucuronoziltransferazele și sulfotransferazele (7, 15, 14).

În organismul uman citocromul P450 există sub diferite izoforme (la momentul actual sunt cunoscute mai mult de 400) codate de o diversitate de gene (18, 27, 76, 79, 80). Citocromul prezintă un complex format din proteină și sistemul de porfirină. Funcția lui de bază este activarea oxigenului, ce realizează procesul de hidroxilare (3, 6, 14). Acesta este necesar pentru eliminarea substanțelor exogene din organism. Particularitățile expresiei tisular-specifice a citocromului P450 în hepatocite asigură participarea mai activă a acestui organ în procesul de

biotransformare a xenobioticelor (5,12,14). Concentrația citocromului P450 în ficat și alte organe este scăzută în dezvoltarea infecțiilor bacteriene și virale, în imunizarea cu diferiți antigeni, în condițiile imunostimulării farmacologice (9,11,14). Probabil, mărirea concentrației citocromului P450 la pacienții cu hepatită cronică virală poate fi privită ca o reacție compensatorie de adaptare ce răspunde la acțiunea combinată a acestor compuși. Majoritatea izoformelor citocromului sunt inductibile, adică cantitatea lor în celule se mărește considerabil la apariția substratului. În dependență de predominarea în celulă a uneia sau altea izoforme poate fi schimbată componența produșilor reacției, în special, raportul dintre activare și detoxicare. În cazul activității scăzute a enzimei în celulă are loc acumularea produșilor I faze de biotransformatre și corespunzător se mărește riscul de leziune a ADN. Conținutul majorat de enzime a sistemului citocrom P450 în rezultatul inducției duce către mărirea producerii metaboliților toxici (4, 11, 12, 14)

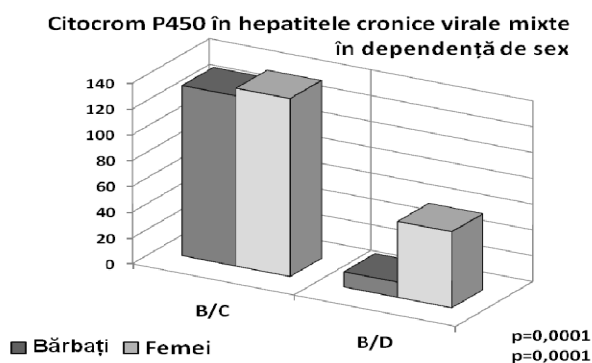
În condițiile creșterii stresului oxidativ, condiționat de generarea formelor active de oxigen, frecvent se observă micșorarea activității NO-sintazei endoteliale și glutatationperoxidazei. Însăși oxidul nitric prezintă o moleculă paramagnetică, adică un radical liber, care în condiții nefavorabile a metabolismului, este capabil să provoace așa numitul stres nitrozativ. Oxidul nitric exprimă aceleași funcții duale și asupra ficatului manifestând rolul de mesager în reglarea metabolismului respirației tisulare, detoxicarea substanțelor, în perfuzia hepatocitelor, având acțiune antimicrobiană și de apărare în diferite disfuncții și inflamații. În același timp, manifestându-se ca toxin în diferite procese patologice în ficat îndeosebi ca hepatita cronică și ciroza hepatică (12, 13, 14). Oxidul nitric în ficat favorizează activitatea funcțională a hepatocitelor și decurgerea proceselor de detoxicare a lor (5, 7, 13,14). În starea de inflamație cronică hepatică, când este prezentă o cantitate mare de NO, el poate deveni genotoxic, inducând dezvoltarea cancerului hepatocelular. Plus la asta în decursul ischemiei îndelungate nivelurile înalte de NO posedă efecte citotoxice, ce induc la leziuni severe a ficatului (12,13, 14). Există opinii că mărirea concentrației NO este similară stadiului de mobilizare cu o reacție stres adecvată, iar diminuarea - stadiului de epuizare a organismului. Mărirea cantității de NO poate fi rezultatul formării oxidului nitric din nitriți în rezultatul reacțiilor de transformare nitratreductazice, în condițiile de hipoxie, care frecvent se dezvoltă la pacienții cu proces hepatic inflamator activ (9, 13, 14).

Scopul

Determinarea concentrației citocromului P450 la pacienții cu hepatite cronice virale mixte (B/C) și (B/D) cu conținut diferit de nitrați și nitriți în organism.

Material și metode

Examinării au fost supuși 74 pacienți cu hepatită cronică virală mixtă B/ C(n=37) și B/D (n=37). Limitele de vârstă erau cuprinse între 27 și 45 ani. Diagnosticul a fost stabilit respectiv sindroamelor hepatice de bază cu efectuarea examenului ecografic, scintigrafiei hepatice. Marcherii virali s-au determinat prin tehnica imunoenzimatică ELISA. Nivelul nitraților și nitriților în lichidele biologice a fost apreciat după metoda calorimetrică cu ajutorul reactivului Greiss. Concentrația citocromului P-450 s-a determinat conform metodei de apreciere a activității hidroxilazei (Орѣхович Н.,1993). Lotul martor l-au constituit 26 persoane practic sănătoase.

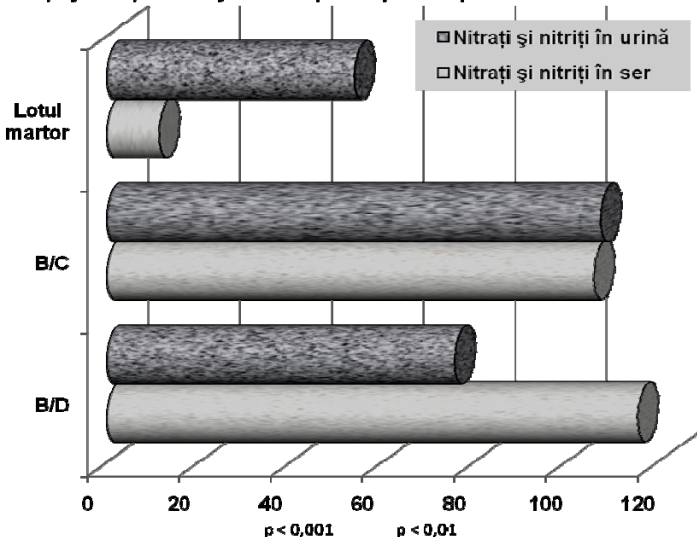


Rezultate și discuții

Studiul efectuat a relatat o creștere marcată a **citocromului P450** în hepatitele cronice virale mixte, atât în HDV – $43,00 \pm 26,73$ mu/l, cât și în hepatita cronică B/C – $108,62 \pm 28,87$ mu/l față de lotul martor - $12,08 \pm 3,38$ mu/l ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Analizarea loturilor cercetate a stabilit o concentrație mai înaltă a citocromului P450 în hepatita cronică mixtă B/C - $108,62 \pm 28,87$ mu/l versus

pacienților cu HDV - $43,00 \pm 26,73$ mu/l ($p = 0,0001$, $t = 10,14$). Loturile respective au fost examinate în dependență de faza activității virale. S-a constatat o prevalență mai mare a citocromului P450 la pacienții cu hepatita cronică virală mixtă B/C în ambele faze a infecției virale, constituind în perioada neactivă a maladei - $146,00 \pm 2,73$ mu/l ($n = 9$) și - $130,89 \pm 42,01$ ($n = 28$) mu/l în faza de reactivare virală comparativ pacienților cu HDV - $36,35 \pm 21,34$ mu/l ($n = 14$) și respectiv - $57,13 \pm 20,50$ mu/l ($n = 23$) ($p < 0,0001$, $t = 15,20$; $p < 0,0001$, $t = - 5,69$). Evaluarea coraportului bărbați/femei a relatat rezultate similare, stabilind o prevalență majoră a citocromului P450 în hepatita cronică mixtă B/C - $131,92 \pm 31,11$ mu/l la bărbați ($n = 13$) și $137,87 \pm 41,37$ mu/l la femei ($n = 24$) versus pacienților cu HDV - $11,72 \pm 36,11$ mu/l ($n = 22$) și respectiv $58,86 \pm 47,24$ mu/l ($n = 15$) ($p = 0,0001$, $p = 0,0001$).

Nitrații și nitriții în ser și urină la pacienții cu hepatite cronice virale mixte



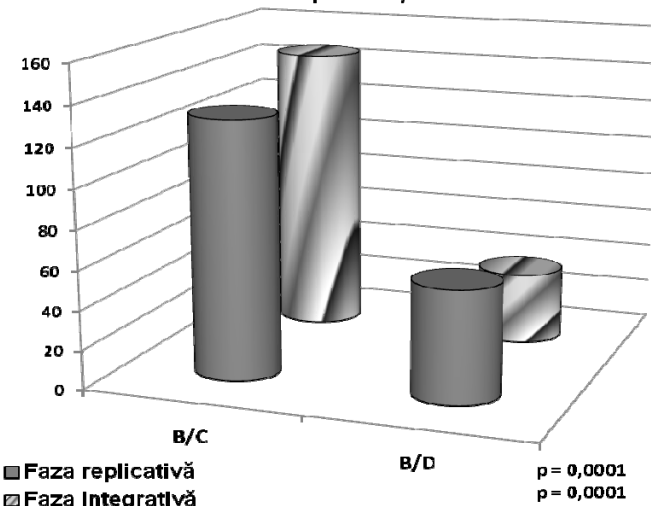
sănătoase - $53,77 \pm 1,17$ mcmoll ($p < 0,001$; $p < 0,05$). Loturile respective au fost comparate între ele, rezultate statistice veridice **a nitraților și nitriților în ser** nu au fost obținute. A fost stabilită o creștere semnificativă a cantității **nitraților și nitriților în urină** în hepatita cronică mixtă BC - $107,51 \pm 31,88$ mcmoll versus pacienților cu HDV - $75,62 \pm 45,59$ mcmoll ($p < 0,0001$).

Datele pacienților din loturile studiate au fost comparate în funcție de faza activității virale. S-a stabilit majorarea cantității de **nitrați și nitriți în ser** în faza activă a maladei în hepatita cronică HDV ($n = 23$) - $142,47 \pm 14,88$ mcmoll versus pacienților cu hepatita cronică mixtă BC ($n = 28$) $116,42 \pm 42,25$ mcmoll ($p = 0,007$, $t = - 2,81$). Cantitatea **nitraților și nitriților în urină** în faza de reactivare a maladei a relatat o creștere în hepatita cronică mixtă BC ($n = 28$) - $136,28 \pm 48,38$ mcmoll versus pacienților cu HDV ($n = 23$) - $98,47 \pm 75,89$ mcmoll. ($p = 0,003$, $t = 2,15$). Cât privește faza neactivă a infecției virale, rezultate statistice veridice, atât în ser, cât și în urină, nu au fost obținute.

Studierea indicilor respectivi la acest grup de pacienți, atât în localitățile rurale, cât și cele urbane respectiv duratei și evoluției bolii rezultate veridice nu au fost observate. Merită menționat faptul, că în hepatita cronică HDV din zona urbană s-a constatat majorarea cantității de nitrați și nitriți în ser a persoanelor cu durata bolii mai mare de 5 ani - $165,50 \pm 20,50$ mcmoll

La pacienții respectivi, concomitent, a fost apreciat nivelul **nitraților și nitriților în ser și urină**. S-a constatat o creștere semnificativă a **nitraților și nitriților în ser** atât în hepatita cronică B/C - $106,00 \pm 32,59$ mcmoll, cât și în HDV - $115,51 \pm 8,17$ mcmoll versus pacienților lotului martor - $11,18 \pm 0,23$ mcmoll ($p < 0,001$; $p < 0,0001$). Rezultate similare s-au obținut și **în urină**, constituind în hepatita cronică mixtă B/C - $107,51 \pm 31,88$ mcmoll și respectiv - $75,62 \pm 45,59$ mcmoll în HDV față de persoanele

Citocromul P450 la pacienții cu hepatite cronice virale în dependență de fază



versus pacienților cu evoluția bolii mai mică de 5 ani - $114,66 \pm 11,59$ mcmoll. ($p=0,03$, $t = -3,67$).

Datele unor autori demonstrează că interacțiunea genelor HBV cu enzimele detoxificatorii pot contribui la accentuarea efectului sinergic a HBV, care împreună cu carcinogenii chimici favorizează dezvoltarea carcinomului hepatocelular (8,12). Infecția persistentă a hepatitelor virale B și expunerea la carcinogeni chimici corelează cu prevalența carcinomului hepatocelular în zonele endemice (7,8,12). Probabil, că hepatita virală HBV nu este un virus mutagen, dar în majoritatea cazurilor, el este supus acestor transformări datorită factorilor toxici, spre exemplu, toxinele mediului. Hepatocarcinomul celular apare în particular în ficatele afectate de ambii factori, atât de toxinele chimice, cât și de însăși virusul B (7, 9, 10)

Există opinii contradictorii despre rolul NO în reglarea diminuată a citocromului P450, care are loc atunci, când hepatocitele mature sunt expuse stimulilor inflamatorii (2). Citocromul P450 hepatic este deasemenea implicat în patogeneza diferitor maladii hepatice. În multe cauze legătura chimică covalentă a metaboliților toxici și citocromului P450 conduce la formarea unor anticorpi anticitocrom și hepatotoxicității imun- mediate. Studii recente elucidează rolul P450 în patogeneza bolii alcoolice și steatohepatitei non-alcoolice (2,7). În aceste condiții activitatea mărită a citocromului este asociată cu intensificarea peroxidării lipidice și producerea speciilor de oxigen reactiv cu lizarea secundară a membranelor celulare și mitocondriale. Există o corelare strânsă între activitatea citocromului P450 și severitatea cirozei hepatice, dar utilitatea aprecierii rezervelor hepatice, rămâne încă neclară (7).

Studiile experimentale demonstrează că din acțiunea combinată a pesticidelor și compușilor organici asupra organismului, adesea rezultă un efect mult mai pronunțat decât la administrarea separată a lor. Este demonstrat pericolul efectului sumat al nitraților și nitriților, cât și derivaților lor, ce se manifestă nu numai prin acțiunea separată ci și prin agresiunea produșilor lor de biotransformare (7, 9, 11). Ei acționează asupra membranelor celulare, dereglează permeabilitatea lor, cauzând dereglări electrolitice și enzimaticе. (7, 9) Datele citate din literatură demonstrează că prin acțiunea substanțelor chimice, inclusiv nitraților și nitriților, cât și derivaților lor, apar dereglări serioase în metabolismul, funcția și structura ficatului. Prin urmare, datele noastre, împreună cu cele expuse în literatură, confirmă faptul că expunerea complexă a factorilor de mediu (în special nitrații și nitriții), concomitent cu infecția virală alterează mai profund funcția de detoxicare hepatică, prin aceasta favorizând cronicizarea procesului. Acțiunea complexă a factorilor de mediu și infecția virală, posibil, provoacă dereglări mai profunde în metabolismul hepatic, favorizând cronicizarea și decurgerea nefavorabilă a hepatitelor cronice virale.

Concluzii

1. Hepatitele cronice virale mixte (B/C, B/D) sunt caracterizate printr-o concentrație mărită a citocromului P450, fapt, explicat printr-o reacție compensatorie la răspunsul acțiunii factorilor toxici și procesului inflamator existent.
2. În hepatita cronică mixtă B/C, in ambele faze a infecției virale, a fost stabilită o concentrație elevată a citocromului P450 versus pacienților cu hepatita cronică B/D.
3. Diminuarea concentrației citocromului P450 în hepatita cronică HDV, în faza activă a maladii, este manifestată printr-o decurgere nefavorabilă a procesului hepatic, posibil explicat prin mărirea concentrației serice și micșorarea excreției urinare a metaboliților oxidului nitric.

Bibliografie

1. Failli P, R.M. DeFranco, A. Caligiuri, A. Gentilini, R.G. Romanelli, F. Marra et al., Nitrovasodilators inhibit platelet-derived growth factor-induced proliferation and migration of activated human hepatic stellate cells, *Gastroenterology* 119 (2000) 479-492.
2. Ferrari Luc, Ning Peng, James R. Role of nitric oxide in Down- Regulation of CYP2B1 Protein, but Not RNA, in Primary Cultures of Rat Hepatocytes. *Molecular pharmacology*, Vol 60, Issue 1, pag 209-216, 2001.

3. Schroder P, Ficher C, Debus R, Wenzel A. Reaction of detoxification mechanisms in suspension cultured spruce cells to heavy metals in pure mixture and in soil eluates. GSF National Research Center for Environment and Health, Germany. Environ Sci Pollut. Res. Int. 2003; v.10, 225-234.
4. Sheweita S.A., Tilmisany A.K. Cancer and phase II drug – metabolizing enzymes. Department of bioscience Institute of Graduate Studies Research, Alexandria University, Egypt. Curr. Drug. Metab. 2003; 4. 45-58.
5. Theo P, Mulder I, Daniel A. Variability of Glutathione S-transferase alfa in Human Liver and Plasma. J. Clinical Chemistry v. 45, 355- 359; 2000.
6. Yong Wu, Xiaoxue Zhang, Fawzia Bardag Gorce, Rose C, Robel V. Retinoid X Receptor alfa Regulates Glutathione Homeostasis and xenobiotic Detoxification Processes in Mouse Liver. J. Mol. Pharmacology v. 65, 550- 557; 2004.
7. Villeneuve JP, Pichette V. Cytochrome P450 and liver diseases. Curr Drug Metabol. 2004, Vol 5 (3), pag. 273-282.
8. Wei C.L., Hon W.M., Lee K.H., Khoo H.E. Temporal expression of hepatic inducible nitric oxide synthase in liver cirrhosis // World J. Gastroenterol.— 2005.— 21.— 11 (3).— P. 362—367.
9. Бабак О.Я., Н.В. Ярмыш, Г.Ю. Панченко Механизмы гепатопротекторного и токсического влияния азота оксида, Сучасна гастроентерология, №5, 2006, стр 79-84.
10. Ивашкин В.Т., Драпкина О. М., Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. Москва. 2001.
11. Полунина Татьяна Евгеньевна. Лекарственные поражения печени Лечащий врач. №3, 2005
12. Сибиряк С.В, Цитокины как регуляторы цитохром Р450- зависимых монооксигеназ. Теоретические и прикладные аспекты. 2003.
13. Симон В.А. Цитохром Р450 и взаимодействие лекарственных веществ. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. №6, 2002.
14. Северин С.С. Биохимические основы патологических процессов. Москва. 2000

UN CAZ CLINIC DE CARCINOM HEPATOCELULAR ÎN ASOCIERE CU CIROZA HEPATICĂ COMPLICATĂ CU TROMBOZA VENEI PORTĂ

Iurii Moscalu¹, Vlada Dumbrava¹, Maria Sturza¹, Maria Cojuhari², Gabriela Chitic¹.

1-USMF „N. Testemițanu” Catedra de Medicina Internă Nr.4

2- Spitalul Clinic Republican

Summary

A Case Report of Hepatocellular Carcinoma associated with liver cirrhosis complicated with portal vein thrombosis

Hepatocellular carcinoma is the most common primary malignant tumor of the liver. The principal reason for the high incidence of hepatocellular carcinoma is the frequency of chronic infection with *hepatitis B virus* (HBV) and *hepatitis C virus* (HCV), that frequently lead to cirrhosis, which itself is an important risk factor for hepatocellular carcinoma. Ultrasound is frequently used to screen high-risk populations and should be the first procedure if hepatocellular carcinoma is suspected, an other screening method is the determining of alpha-fetoprotein in high- risk patients.

Sumar

Carcinomul hepatocelular este cea mai frecventă tumoarea malignă primară a ficatului. Principala cauză a incidenței înalte a carcinomului hepatocelular este frecvența infecției cronice cu virusul hepatitei B și virusul hepatitei C, care deseori cauzează ciroza hepatică, care singură constituie un factor de risc important al carcinomului hepatocelular. Ultrasunetul este utilizat