

брилляции предсердий у пациентов с врожденными и приобретенными пороками сердца. Вестник аритмологии. 2004; 35: 16—21.

14. Gage B.F., Cardinalli A.B., Owens D.K. The effect of stroke and stroke prophylaxis with aspirin or warfarin on quality of life. Arch. Intern. Med. 1996; 156: 1829—36.
15. Das A.K., Willcoxson P.D., Corrado O.J., West R.M. The impact of long-term warfarin on the quality of life of elderly people with atrial fibrillation. Age Ageing. 2007; 36 (1): 95—7.

REFERENCES

1. Pogossova N.V., Baychorov I.Kh. Yufereva Yu.M. Koltunov I.E. Quality of life of patients with cardiovascular diseases: current state of a problem. Cardiology. 2010; 4: 66—78 (in Russian).
2. Novick A.A., Ionova T.I. Research of quality of life in medicine. M: GEOTAR-Med; 2004 (in Russian).
3. Nishi K., Eishi K., Shibata Y., Amano J., Kaneko T., Okabayashi H. et al. Influence of prosthetic heart valve sound on a patient's quality of life. Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2010; 16 (6): 410—6.
4. Bokeriya L.A., Revishvili A.Sh. Modern approaches to not pharmacological treatment of fibrillation of auricles. Vestnik aritmologii. 2006; 45: 5—16 (in Russian).
5. Evtushenko A.V., Evtushenko V.V., Petlin K.A., Belenkova E.M., Antonchenko I.V. Definition of the concept of increase of efficiency of the remote results of radio-frequency fragmentation of auricles according to the scheme "Labyrinth" on the basis of experience of two hundred operations. Vestnik aritmologii. 2012; 69: 5—11 (in Russian).
6. Sponga S., Voisine P., Buja G., Leoni L., Nalli C., Gerosa G. et al. Role of an aggressive rhythm control strategy on sinus rhythm maintenance following intra-operative radiofrequency ablation of atrial

fibrillation in patients undergoing surgical correction of valvular disease. J. Cardiol. 2012; 60 (4): 316—20.

7. Gorbunova E.V. Salakhov R.R., Burkov T.V. Gruzdev O.V., Rutkovsky H.B., Odarenko Yu.N. et al. Anticoagulation therapy at patients with the fitted a prosthesis valves of heart: Methodical recommendations. Kemerovo; 2012 (in Russian).
8. Mihaila V., Enacescu D., Devila C. General population norms for Romania using the Shot Form 36 Health Survey (SF-36). Newsletter. 2001; 26: 17—8.
9. Goncalves F., Marinho P., Maciel M. Quality of life assessment following heart surgery, during phase I rehabilitation, through MOS f-36 questionnaire. Rev. Bras. Fisioter. 2006; 10: 107—12.
10. ACC/AHA 2006 Guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J. Am. Coll. Cardiol. 2006; 48: 3—148.
11. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). Eur. Heart J. 2012; 33: 2451—96.
12. Petrov V.I., Rogova N.V., Shabashev I.G., Serdyukova D.M. Treatment of recidivous paroksizmalny fibrillation of auricles. Lekarshtvennyi vestnik. 2010; 5 (8): 3—12 (in Russian).
13. Evtushenko A.V., Knyazev M.B., Shipulin V.M., Popov S.V., Antonchenko I.V., Kiselyov V.O. et al. Surgical treatment of fibrillation of auricles at patients with the congenital and acquired heart diseases. Vestnik aritmologii. 2004; 35: 16—21 (in Russian).
14. Gage B.F., Cardinalli A.B., Owens D.K. The effect of stroke and stroke prophylaxis with aspirin or warfarin on quality of life. Arch. Intern. Med. 1996; 156: 1829—36.
15. Das A.K., Willcoxson P.D., Corrado O.J., West R.M. The impact of long-term warfarin on the quality of life of elderly people with atrial fibrillation. Age Ageing. 2007; 36 (1): 95—7.

Поступила 20.03.13

© В.Г. БУЛЫГИН, Г.В. БУЛЫГИН, 2014

УДК 616.36-002.2-022.6-053.2-092.18-008.9-074

В.Г. Булыгин^{1*}, Г.В. Булыгин^{1,2}

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ И ПАРАМЕТРЫ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» СО РАМН, 660022, Красноярск, Россия; ²ГОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, 660022, Красноярск, Россия

*Булыгин Вадим Геннадьевич. E-mail: impn@impn.ru

♦ Определение показателей активности НАД(Ф)-зависимых ферментов и липидного состава в биоптатах печени у 21 ребенка в возрасте 12—16 лет, больных хроническим гепатитом С, показало, что в клетках печени при III стадии хронизации процесса по сравнению со II активированы синтетические процессы, интенсифицированы конечные этапы цикла Кребса и одновременно снижена защита клеток от процессов перекисного окисления липидов, выше уровень холестерина и ниже его эфиров, а липидный обмен смещен в сторону липолиза. Таким образом, установлено, что показатели активности ферментов и липидного состава в клетках печени у детей, больных хроническим гепатитом С, зависят от стадии хронизации заболевания и при III стадии отмечаются более глубокие, чем при II, перестройки метаболических путей, являющиеся, по-видимому, следствием нарастания тяжести течения данного инфекционного процесса.

Ключевые слова: дети; хронический вирусный гепатит С; стадии хронизации; печень; ферменты; липиды; метаболизм

V.G. Bulygin¹, G.V. Bulygin^{1,2}

THE INDICATORS OF ACTIVITY OF ENZYMES AND PARAMETERS OF LIPID SPECTRUM IN CELLS OF LIVER IN CHILDREN UNDER CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

¹The research institute of medical problems of the North of the Siberian branch of the Russian academy of medical sciences, 660022 Krasnoyarsk, Russia

²The professor V.F. Voyno-Yasenskii Krasnoyarsk state medical university, Krasnoyarsk, Russia

♦ The determination of indicators of activity of NAD (F)-dependent enzymes and lipid composition in biopsy material of liver from 21 children aged 12-16 years and suffering from chronic hepatitis C demonstrated that under stage III of process of chronic transformation of disease in comparison with stage II in cells of liver the synthetic processes are activated, the final stages of Krebs cycle are intensified and simultaneously protection of cells from processes of lipid peroxidation is reduced. The study also established that cholesterol level is increased and level of cholesterol ethers is decreased and lipid metabolism is shifted aside lipolysis. Therefore, it is established that indicators of activity of enzymes and lipid composition in cells of liver in children with chronic hepatitis C depend on the stage of chronic transformation of disease. The study demonstrated that under stage III as compared to stage II the more profound rearrangements of metabolic fates are occurring seemingly due to increase of severity of course of the given infectious process.

Keywords: children, chronic viral hepatitis C, stage of chronic transformation of disease, liver, enzyme, lipids, metabolism

Хронический вирусный гепатит С является одной из актуальных проблем мировой медицины в связи с его широкой распространенностью и возможностью развития неблагоприятных исходов в виде цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [1—4]. В последние годы эта проблема приобретает все возрастающее значение в педиатрии [5, 6], так как многие вопросы, связанные, в частности, с особенностями патогенеза хронической HCV-инфекции у детей и подростков, остаются нерешенными. В связи с этим несомненный интерес представляет получение информации о метаболических изменениях, происходящих непосредственно в ткани печени у детей при разных стадиях хронизации гепатита С и вызывающих нарушения морфофункциональных параметров этого органа при данном заболевании.

На сегодняшний день морфофункциональные поражения печени больных хроническим гепатитом в основном оцениваются по материалу, получаемому при пункционной биопсии. При оценке морфологических изменений в гепатобиоптате при хронических гепатитах используют полуколичественные (ранговые) системы счета [7], которые зачастую являются единственными объективными показателями активности скрыто протекающего процесса, в том числе и у детей [5].

Вместе с тем процедура подобного рода далеко не безразлична для организма ребенка. Поэтому в настоящее время активно продолжается поиск новых, менее травматичных методов обследования, позволяющих уточнить степень поражения печени при данных патологических состояниях.

Проявление функциональных возможностей любой клетки живого организма в значительной степени определяется ее внутриклеточным метаболизмом, зависящим от специфики патологического процесса. Параметрами, отражающими направленность и интенсивность реакций в клетках, являются определяемые в них показатели активности ферментов и липидного спектра [8, 9]. Однако в доступной литературе практически нет сведений о комплексных исследованиях, оценивающих метаболизм ткани печени по этим параметрам у детей, больных хроническим гепатитом С.

Целью наших исследований явилось определение показателей активности НАД(Ф)-зависимых ферментов и липидного состава в клетках печени у детей, больных хроническим вирусным гепатитом С, и выявление зависимости этих параметров от стадии хронизации заболевания.

Обследован 21 ребенок в возрасте от 12 до 16 лет с диагнозом хронического вирусного гепатита С, который устанавливался в условиях специализированного стационара с помощью набора стандартных клинико-биохимических, а также иммуноферментных методов исследования и подтверждался морфологически при пункционной биопсии печени (под контролем УЗИ) с учетом гистологического индекса степени активности и гистологического индекса стадии хронизации [7]. Из общего числа обследованных детей у 11 определялась II стадия хронизации процесса (слабая или умеренная степень активности с умеренно выраженными фиброзными изменениями в печени) и еще у 10 выявлялась III стадия хронизации гепатита С (слабая или умеренная степень активности с тяжелым фиброзом в печени).

Биолюминесцентным методом [10] в клетках печени определялась активность ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ), НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДФГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой малакдегидрогеназы (НАДМДГ и НАДФМДГ), а также глутатионредуктазы (ГР). Активность ферментов выра-

жалась в микроединицах на 1 микрограмм ткани печени (в мкЕ/мкг).

Параметры липидного спектра клеток печени — фосфолипиды (ФЛ), холестерин (ХЛ), свободные жирные кислоты (СЖК), триацилглицериды (ТАГ) и эфиры холестерина (ЭХ) — определялись тонкослойной хроматографией на силуфол с экстракцией липидов по J. Folch и соавт. [11] и последующей денситометрией для определения доли (в %) каждой из липидных фракций.

Полученные данные обработаны методами статистического анализа с применением пакета прикладных программ Statistica 6,0 и рекомендаций по их использованию в биологии и медицине [12]. В таблицах представлены среднegrupповые показатели (M) и ошибка средней (m). Достоверность различий оценивалась непараметрическим критерием Манна—Уитни (U).

В результате исследования выявлен ряд достоверных различий между показателями активности ферментов в клетках печени при разных стадиях хронизации вирусного гепатита С (табл. 1).

Например, активность Г6ФДГ при III стадии хронизации выше, чем при II: $22,16 \pm 5,02$ и $9,86 \pm 3,09$ мкЕ/мкг ($p < 0,05$). Также более высоким при III стадии по отношению ко II определен уровень НАДФМДГ — $23,09 \pm 5,56$ и $9,92 \pm 2,43$ мкЕ/мкг ($p < 0,05$). Кроме того, выявлена тенденция к достоверности различий между показателями активности ГР при II и III стадиях хронизации гепатита С: при III стадии уровень активности этого фермента ниже, чем при II ($2,96 \pm 0,63$ и $8,56 \pm 3,52$ мкЕ/мкг ($p < 0,1$)).

Установленные особенности активности ферментов позволили предположить, что синтетические процессы в клетках печени у детей при III стадии хронизации вирусного гепатита С более выражены, чем при II, о чем свидетельствует больший уровень Г6ФДГ при более тяжелой стадии заболевания. Также при усилении тяжести процесса повышается интенсификация конечных этапов цикла трикарбоновых кислот, позволяющая переводить часть малата, образующегося в цикле Кребса, в пируват, что подтверждается более высоким уровнем активности НАДФМДГ при III стадии, по сравнению со II. Вместе с тем при более тяжелой стадии заболевания снижается уровень защиты клеток печени от процессов перекисного окисления липидов: уменьшается активность ГР — фермента антиоксидантной глутатионовой системы. Кроме того, учитывая роль этого фермента в транспорте аминокислот в клетку, можно предположить, что их поступление в клетки печени у детей при III стадии хронизации гепатита С существенно меньше, чем при II.

При сравнении показателей липидного спектра в клетках печени у детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита С установлены достоверные различия между

Таблица 1
Активность ферментов (в мкЕ/мкг) в клетках печени у детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита С ($M \pm m$)

Показатель	II стадия хронизации ($n = 11$)	III стадия хронизации ($n = 10$)
Г6ФДГ	$9,86 \pm 3,09$	$22,16 \pm 5,02$ ($p_1 < 0,05$)
ГЗФДГ	$117,46 \pm 20,11$	$254,87 \pm 73,00$
ЛДГ	$2,41 \pm 0,75$	$7,68 \pm 4,09$
НАДИЦДГ	$1,47 \pm 0,66$	$2,18 \pm 0,67$
НАДФИЦДГ	$11,56 \pm 3,87$	$10,50 \pm 3,84$
НАДГДГ	$329,04 \pm 87,55$	$289,91 \pm 52,83$
НАДФГДГ	$7,00 \pm 1,48$	$11,83 \pm 3,00$
НАДМДГ	$164,63 \pm 32,26$	$174,96 \pm 36,77$
НАДФМДГ	$9,92 \pm 2,43$	$23,09 \pm 5,56$ ($p_1 < 0,05$)
ГР	$8,56 \pm 3,52$	$2,96 \pm 0,63$ ($p_1 < 0,1$)

Таблица 2

Содержание липидов в клетках печени у детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита С (М ± т)

Показатель	II стадия хронизации (n = 11)	III стадия хронизации (n = 10)
ФЛ, %	12,69 ± 0,94	11,63 ± 0,81
ХЛ, %	13,92 ± 0,99	17,39 ± 1,31 ($p_1 < 0,05$)
СЖК, %	16,03 ± 1,23	23,01 ± 1,15 ($p_1 < 0,001$)
ТАГ, %	18,30 ± 1,91	14,93 ± 1,84
ЭХ, %	39,06 ± 1,20	33,05 ± 2,12 ($p_1 < 0,05$)
ХОЛ/ФЛ	1,12 ± 0,08	1,53 ± 0,13 ($p_1 < 0,05$)
СЖК/ТАГ	0,91 ± 0,10	1,56 ± 0,10 ($p_1 < 0,001$)

большинством из исследуемых параметров (табл. 2).

Так, например, в клетках печени у больных с III стадией хронизации инфекционного процесса количество ХЛ определяется на большем уровне, чем в клетках детей со II стадией: $17,39 \pm 1,31$ и $13,92 \pm 0,99\%$ ($p < 0,05$). За счет повышения количества ХС при III стадии хронизации увеличивается и соотношение ХЛ/ФЛ по сравнению с этим же показателем, определяемым при II стадии: $1,53 \pm 0,13$ и $1,12 \pm 0,08$ ($p < 0,05$). Вместе с тем содержание ЭХ при более тяжелой стадии определяется ниже, чем при II: $33,05 \pm 2,12$ и $39,06 \pm 1,20\%$ ($p < 0,05$).

Кроме того, при III стадии хронизации увеличивается количество СЖК в клетках печени по сравнению со II ($23,01 \pm 1,15$ и $16,03 \pm 1,23\%$; $p < 0,001$). В связи с этим и соотношение СЖК/ТАГ у больных с III стадией больше, чем со II: $1,56 \pm 0,10$ и $0,91 \pm 0,10$ ($p < 0,001$).

Таким образом, в результате наших исследований установлено, что липидный спектр в клетках печени у детей с III стадией хронизации вирусного гепатита С имеет следующие отличия от аналогичных параметров, определяемых у детей со II стадией хронизации этого заболевания: — более высокое количество ХС (одного из основных структурных липидов, преобладающее количество которого синтезируется именно в печени) и как следствие повышенное соотношение ХОЛ/ФЛ, что определяет увеличение микровязкости и снижение проницаемости клеточных мембран, приводящих в свою очередь к нарастанию функциональной недостаточности органа при усугублении тяжести заболевания;

— меньшее содержание ЭХ, что подтверждает активацию синтеза самого холестерина при этой стадии хронизации; — повышенное содержание СЖК и увеличенное в связи с этим соотношение СЖК/ТАГ, что свидетельствует о преимущественной направленности липидного обмена в сторону липолиза.

Таким образом, полученные в результате наших исследований показатели активности внутриклеточных ферментов и липидного состава в ткани печени у детей с разными стадиями хронизации вирусного гепатита С позволили раскрыть некоторые особенности метаболизма в клетках печени при этом заболевании. Эти особенности заключаются в интенсификации процессов пентозофосфатного пути, конечных этапов цикла Кребса и снижении уровня антиоксидантной защиты клеток в сочетании с перестройками их липидных структур, проявляющимися в повышении уровня ХС, смещении липидного обмена в сторону липолиза и накоплении СЖК при III стадии, по сравнению со II.

Выводы

1. У детей в возрасте от 12 до 16 лет, больных хроническим вирусным гепатитом С, активность внутриклеточных ферментов в печени зависит от стадии хронизации заболевания, а показатели активности энзимов указывают на интенсификацию процессов пентозофосфатного пути, конечных этапов цикла Кребса и снижение уровня анти-

оксидантной защиты клеток в группе детей с III стадией хронизации по сравнению с аналогичными параметрами, определяемыми при II стадии.

2. Изменения липидного состава клеток печени у детей 12—16 лет при хроническом вирусном гепатите С зависят от стадии хронизации этого заболевания и заключаются в следующем: повышении уровня ХС, смещении липидного обмена в сторону липолиза и накоплении в клетках СЖК при III стадии хронизации по сравнению со II.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арямкина О.Л. Хроническая HBV- и HCV-инфекция и рак печени: клинко-эпидемиологические и дифференциально-диагностические параллели. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2006; 2: 36—9.
2. Ивашкин В.Т., ред. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. 2-е изд. М.: М-Вести; 2005.
3. Лучшев В.И., Санин Б.И., Жаров С.Н. Вирусный гепатит С — глобальная проблема нашего времени. Российский медицинский журнал. 2004; 3: 40—5.
4. Серов В.В., Апросина З.Г., Крель П.Е. и др. Хронический вирусный гепатит — одна из наиболее важных проблем современной медицины. Архив патологии. 2004; 66 (6): 6—11.
5. Пучков Ю.Б. Морфофункциональная характеристика печени при хронических вирусных гепатитах В и С у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владивосток; 2005.
6. Учайкин В.Ф., Чуелов С.Б. Вирусные гепатиты у детей: от прошлого к настоящему. Детские инфекции. 2006; 4: 4—8.
7. Серов В.В., Севергина Л.О. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С. Архив патологии. 1996; 4: 61—4.
8. Булыгин Г.В., Камзалакова Н.И., Андрейчиков А.В. Метаболические основы регуляции иммунного ответа. Новосибирск: СО РАМН; 1999.
9. Тихонова Е.П., Булыгин Г.В. Метаболические основы иммунореактивности при парентеральных гепатитах В и С. Новосибирск: Наука; 2003.
10. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биoluminesцентным методом. Лабораторное дело. 1989; 11: 23—5.
11. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957; 226 (1): 497—509.
12. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: Применение пакета прикладных программ Statistica. М.: Медиа Сфера; 2002.

REFERENCES

1. Arjamkina O.L. Hronicheskaja HBV- i HCV-infekcija i rak pecheni: kliniko-jepidemiologicheskie i differencial'no-diagnosticheskie paralleli. Jepidemiologija i infekcionnyye bolezni. 2006; 2: 36—9.
2. Ivashkin V.T., red. Bolezni pecheni i zhelcheyvodjashih putej: Ru-kovodstvo dlja vrachej. 2-e izd. M.: M-Vesti; 2005.
3. Luchshev V.I., Sanin B.I., Zharov S.N. Virusnyj gepatit S — global'naja problema nashego vremeni. Rossijskij medicinskij zhurnal. 2004; 3: 40—5.
4. Serov V.V., Aprosina Z.G., Krel' P.E. et al. Hronicheskij virusnyj gepatit — odna iz naibolee vazhnyh problem sovremennoj mediciny. Arhiv patologii. 2004; 66 (6): 6—11.
5. Puchkov Ju.B. Morfofunkcional'naja harakteristika pecheni pri hronicheskikh virusnyh gepatitah V i S u detej: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Vladivostok; 2005.
6. Uchajkin V.F., Chuelov S.B. Virusnye gepatity u detej: ot proshlogo k nastojashhem. Detskie infekcii. 2006; 4: 4—8.
7. Serov V.V., Severgina L.O. Morfologicheskie kriterii ocenki jetiologij, stepeni aktivnosti i stadii processa pri virusnyh hronicheskikh gepatitah V i S. Arhiv patologii. 1996; 4: 61—4.
8. Buligin G.V., Kamzalakova N.I., Andrejchikov A.V. Metabolicheskie osnovy regulacii immunного otveta. Novosibirsk: SO RAMN; 1999.
9. Tihonova E.P., Buligin G.V. Metabolicheskie osnovy immunoreaktivnosti pri parenteral'nyh gepatitah V i S. Novosibirsk: Nauka; 2003.
10. Savchenko A.A., Suncova L.N. Vysokochuvstvitel'noe opredelenie aktivnosti degidrogenaz v limfocitah perifericheskoy krvi cheloveka bioluminescentnym metodom. Laboratornoe delo. 1989; 11: 23—5.
12. Rebrova O.Ju. Statisticheskij analiz medicinskih dannyh: Primenenie paketa prikladnyh programm Statistica. M.: Media Sfera; 2002.

Поступила 24.01.13