

В.Г. Булыгин, Г.В. Булыгин

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ХРОНИЗАЦИИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В

УДК 577.121:616.36-002-053.2

Обследованы дети в возрасте 12-16 лет, больные хроническим вирусным гепатитом В со 2-й и 3-й стадиями хронизации процесса, у которых в биоптатах печени определены показатели активности НАД/Ф-зависимых ферментов и параметры липидного спектра. Установлено, что нарастание стадии хронизации инфекционного процесса сопровождается снижением в клетках печени количества холестерина и фосфолипидов, смещением липидного обмена в сторону образования триацилглицеридов; снижением активности НАДФ-зависимых ферментов и уменьшением синтетического потенциала метаболизма клеток и их пролиферативных возможностей, снижением уровня защиты клеток от процессов перекисного окисления липидов, уменьшением в них продукции АТФ за счет ингибирования реакций цикла Кребса и гликолиза.

Ключевые слова: дети, хронический вирусный гепатит В, стадии хронизации, печень, липиды, ферменты, метаболизм.

The study included 24 children between the ages 12 and 16 years, patients with chronic hepatitis B with the 2 stage and the 3 stage of the chronic process. In which a liver biopsy determined for the activity of NAD/F-dependent enzymes and parameters of lipid profile. We found that the increase in chronic stage of infection was accompanied by a decrease in liver cells of cholesterol and phospholipids, lipid shift toward the formation of triacylglycerides, decreased activity of NADPH-dependent enzyme and decrease of the synthetic potential of cell metabolism and their proliferative capacity, a reduction in the protection of cells from peroxidation processes lipid reduction in their ATP production by inhibiting the reactions of the Krebs cycle and glycolysis.

Keywords: children, chronic viral hepatitis B, chronic stage, liver, lipids, enzymes, metabolism.

Введение. Анализ заболеваемости и экономических потерь при хроническом вирусном гепатите В [10] позволяет рассматривать эту болезнь как одну из наиболее приоритетных проблем инфекционной патологии в России [9]. Особенно остро стоит этот вопрос для педиатрической практики, так как хронический гепатит В является одним из важнейших факторов детской инвалидизации [3].

Несмотря на многочисленные исследования, проведенные при хроническом гепатите В, и на достигнутые успехи в области изучения патогенеза этого заболевания [1, 7, 8], многие вопросы еще не решены окончательно. Несомненный интерес представляет получение информации о метаболических изменениях непосредственно в клетках печени пациентов при разных стадиях хронизации данной патологии.

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 показате-

ли липидного спектра и активности ферментов [2]. В доступной литературе недостаточно сведений об исследованиях при хроническом гепатите В у детей, оценивающих метаболизм в ткани печени по этим параметрам, поэтому получение такой информации весьма актуально для более детального изучения особенностей патогенеза данного заболевания.

Цель исследования – определение показателей липидного состава и активности ферментов в клетках печени у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В, и изучение метаболических механизмов хронизации этого заболевания.

Материалы и методы исследования. Обследованы 24 ребенка в возрасте 12-16 лет с диагнозом хронический вирусный гепатит В, 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 (ГИСА) и гистологического индекса стадии хронизации (ГИСХ) – по В.В. Серову [6]. Из всех обследованных детей у 14 чел. выявлена 2-я стадия хронизации процесса (слабая или умеренная степень активности с умеренно выраженными фиброзными изменениями в печени) и еще у 10 – 3-я стадия (слабая или умеренная степень активности с тяжелым фиброзом в печени).

Основная масса ткани печени, полученной при биопсиях, использовалась для гистологического заключения, а 3-5 мг ее – для определения показателей липидного состава и активности внутриклеточных ферментов.

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

Биoluminesцентным методом [5] определялась активность метаболических ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ), НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДФГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (НАДМДГ и НАФМДГ), а также глутатионредуктазы (ГР). Активность ферментов выражалась в микроединицах на 1 микрограмм ткани печени (мкЕ/мкг).

Полученные данные обработаны методами статистического анализа с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0 и рекомендаций по их использованию в биологии и медицине [4]. В таблицах представлены среднегрупповые показатели (М)

БУЛЫГИН Вадим Геннадьевич – к.м.н., вед.н.с. ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, imprn@imprn.ru; **БУЛЫГИН Геннадий Викторович** – д.м.н., проф., проф. ГОУ ВПО «Красноярский ГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ и СР РФ, bulyginvadim@mail.ru.

и ошибка средней (m). Достоверность различий оценивалась непараметрическим критерием Манна-Уитни (U).

Результаты и обсуждение. В результате исследования выявлены достоверные различия между показателями липидного состава клеток печени в группах обследованных больных детей, различающихся по стадии хронизации гепатита В (табл. 1).

Так, в клетках печени у детей с 3-й стадией хронизации инфекционного процесса процентное содержание основных структурных компонентов клеток определяется на меньшем уровне, чем при 2-й стадии – ФЛ ($11,65 \pm 1,58$ и $16,67 \pm 1,35$ соответственно; $p < 0,05$) и ХОЛ ($12,50 \pm 1,30$ и $19,24 \pm 1,67$; $p < 0,01$). В то же время при 3-й стадии больше доля ТАГ ($36,54 \pm 3,06$ и $27,46 \pm 2,55$; $p < 0,05$).

Меньшее содержание в клетках печени основных структурных липидов (ХОЛ и ФЛ), основное количество которых синтезируется именно в этом органе, у детей с 3-й стадией хронизации является, вероятно, отражением нарастающей, по сравнению со 2-й стадией, функциональной недостаточности органа при усугублении тяжести процесса. Учитывая важнейшую роль ХОЛ в ограничении реакций перекисного окисления липидов, уменьшение этой фракции в клетках, несомненно, снижает возможности их антиоксидантной защиты и создает предпосылки для еще большего повреждения клеток печени мультифакторным патологическим процессом.

Наиболее же важным из установленных нами в этой части исследований изменений метаболизма можно считать то, что изученные показатели подтверждают смещение липидного обмена в сторону интенсивного образования ТАГ за счет ограничения обмена ХОЛ и уменьшения доли СЖК. Это свидетельствует о наличии при 3-й стадии хронизации гепатита В более активного механизма жирового поражения клеток печени за счет накопления в них ТАГ.

При сравнении активности ферментов в клетках печени при разных стадиях хронизации гепатита В выявлены различия между большинством показателей (табл. 2). При этом установлено, что при 3-й стадии хронизации интенсивность метаболических внутриклеточных реакций в ткани печени ниже, чем при 2-й стадии: Г6ФДГ ($7,99 \pm 2,36$ и $23,63 \pm 6,09$ соответственно; $p < 0,05$), НАДФИЦДГ ($19,06 \pm 5,30$ и $51,88 \pm 10,63$; $p < 0,05$), НАДФГДГ ($9,48 \pm 4,26$ и $31,53 \pm 8,20$; $p < 0,05$),

НАДФМДГ ($7,90 \pm 1,84$ и $22,23 \pm 3,83$; $p < 0,01$), ГР ($3,01 \pm 0,81$ и $7,29 \pm 1,58$; $p < 0,05$), НАДМДГ ($77,75 \pm 17,94$ и $199,91 \pm 42,73$; $p < 0,05$) и ЛДГ ($7,18 \pm 2,26$ и $20,73 \pm 4,43$; $p < 0,05$).

Общим обстоятельством, обращающим на себя внимание, является то, что у больных с 3-й стадией хронизации все исследуемые НАДФ-зависимые ферменты определяются как менее активные. Ингибирование этих ферментов ограничивает образование в клетках восстановленного НАДФ, и, следовательно, формирует меньшие способности внутриклеточного метаболизма к реакциям восстановительного синтеза, в том числе синтеза жирных кислот и стероидов (что сочетается с установленными выше особенностями липидного обмена). Менее высокая, чем при 2-й стадии хронизации, активность Г6ФДГ – фермента пентозофосфатного пути – ограничивает не только количество вырабатываемого в клетках печени восстановленного НАДФ, но и снижает возможности этого пути обеспечивать достаточный синтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот, а в конечном итоге – клеточную пролиферацию.

Кроме того, при 3-й стадии ниже уровень защиты клеток печени от процессов перекисного окисления липидов: уменьшается активность ГР – фермента антиоксидантной глутатионовой системы. Учитывая роль ГР в транспорте аминокислот в клетку, можно предположить, что их поступление в клетки печени у детей при 3-й стадии существенно меньше, чем при 2-й.

При 3-й стадии хронизации гепатита В в клетках печени ниже, чем при 2-й стадии, и уровень выработки энергетических субстратов. Об этом свидетельствует менее высокая активность ферментов цикла Кребса, который вырабатывает в клетках основное количество АТФ, необходимое для энергообеспечения их жизнедеятельности. К ним

относятся как дегидрогеназы начальных и заключительных этапов цикла (НАДФИЦДГ, НАДМДГ, НАДФМДГ), так и фермент НАДФГДГ, подающий на цикл субстраты с аминокислотного обмена. Таким образом, энергоэффективность цикла Кребса по обеспечению функциональных потребностей клеток печени при 3-й стадии снижена.

Одновременно с этим в клетках печени у больных этой группы не определяется и возможная компенсаторная реакция в виде повышения интенсивности гликолиза, которая, как «аварийный механизм», способна проявляться при состояниях повышенной функциональной нагрузки на клетки для обеспечения их потребностей в АТФ. Это подтверждается меньшей активностью ЛДГ при 3-й стадии хронизации, что не только уменьшает выработку АТФ, но и способствует накоплению в клетках лактата и формированию внутриклеточного ацидоза.

Заключение. В результате наших исследований установлено, что у детей 12-16 лет, больных хроническим вирусным гепатитом В, изменения метаболических процессов в клетках печени, обусловленные нарастанием стадии хронизации заболевания, проявляются снижением основных структурных липидов – ХОЛ и ФЛ, смещением липидного обмена в сторону липогенеза и накоплением в клетках ТАГ; снижением активности НАДФ-за-

Таблица 1

Содержание липидов (%) в клетках печени детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита В, ($M \pm m$)

Показатель	Стадия хронизации	
	2-я, n=14	3-я, n=10
ФЛ	$16,67 \pm 1,35$	$11,65 \pm 1,58$, $p < 0,05$
ХОЛ	$19,24 \pm 1,67$	$12,50 \pm 1,30$, $p < 0,01$
СЖК	$9,34 \pm 1,37$	$6,72 \pm 0,80$
ТАГ	$27,46 \pm 2,55$	$36,54 \pm 3,06$, $p < 0,05$
ЭХ	$28,33 \pm 1,89$	$32,59 \pm 0,74$, $p < 0,1$
ХОЛ/ФЛ	$1,24 \pm 0,05$	$1,12 \pm 0,09$
СЖК/ТАГ	$0,42 \pm 0,09$	$0,21 \pm 0,04$, $p < 0,1$

Таблица 2

Активность ферментов (мкЕ/мкг) в клетках печени детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита В, ($M \pm m$)

Показатель	Стадия хронизации	
	2-я, n=14	3-я, n=10
Г6ФДГ	$26,63 \pm 6,09$	$7,99 \pm 2,36$, $p < 0,05$
Г3ФДГ	$132,78 \pm 16,07$	$121,09 \pm 13,60$
ЛДГ	$20,73 \pm 4,43$	$7,18 \pm 2,26$, $p < 0,05$
НАДИЦДГ	$5,25 \pm 1,40$	$2,30 \pm 0,78$
НАДФИЦДГ	$51,88 \pm 10,63$	$19,06 \pm 5,30$, $p < 0,05$
НАДГДГ	$300,30 \pm 66,25$	$153,29 \pm 31,39$, $p < 0,1$
НАДФГДГ	$31,53 \pm 8,20$	$9,48 \pm 4,26$, $p < 0,05$
НАДМДГ	$199,91 \pm 42,73$	$77,75 \pm 17,94$, $p < 0,05$
НАДФМДГ	$22,23 \pm 3,83$	$7,90 \pm 1,84$, $p < 0,01$
ГР	$7,29 \pm 1,58$	$3,01 \pm 0,81$, $p < 0,05$

висимых ферментов и уменьшением синтетического потенциала внутриклеточного метаболизма и пролиферативных возможностей клеток печени, снижением в них продукции АТФ за счет ингибирования реакций цикла Кребса и гликолиза, а также снижением уровня защиты клеток печени от процессов перекисного окисления липидов.

Литература

1. Булыгин В.Г. Параметры метаболизма в лимфоцитах детей и взрослых, больных хроническим вирусным гепатитом В / В.Г. Булыгин, Е.П. Тихонова, Н.А. Аксенова, Г.В. Булыгин // Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – № 2. – С. 33–36.
2. Bulygin V.G. Metabolic parameters in lymphocytes of children and adults with chronic viral hepatitis B / V.G. Bulygin, E.P. Tikhonova, N.A. Akseanova, G.V. Bulygin // Siberian medical review. – 2010. – N2. – P. 33–36.
3. Булыгин Г.В. Метаболические основы регуляции иммунного ответа / Г.В. Булыгин, Н.И. Камзалакова, А.В. Андрейчиков. – Новосибирск, СО РАМН. – 1999. – 346 с.
4. Bulygin G.V. Metabolic bases of regulation of the immune response / G.V. Bulygin, N.I. Kamzalakova, A.V. Andreychikov. – Novosibirsk, SB RAMS. – 1999. – 346 p.
5. Гулякова В.К. Вирусный гепатит В у детей: клинико-эпидемиологические и социальные аспекты / В.К. Гулякова // Российский педиатрический журнал. – 2005. – №3. – С. 21–26.
6. Gunyakova V.K. Viral hepatitis B in children: clinical and epidemiological and social aspects / V.K. Gunyakova // Russian Journal of Pediatrics. – 2005. – N3. – P. 21–26.
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
8. Rebrova O.U. Statistical analysis of medical data: Application software package Statistica / O.U. Rebrova. – Moscow: Mediasphere, 2002. – 312 p.
9. Савченко А.А. Высококчувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биoluminesцентным методом / А.А. Савченко, Л.Н. Сунцова // Лабораторное дело. – 1989. – № 11. – С. 23–25.
10. Savchenko A.A. Highly sensitive determination of dehydrogenase activity in human peripheral blood lymphocytes by bioluminescent / A.A. Savchenko, L.N. Suntsova // Laboratory work. – 1989. – N11. – P. 23–25.
11. Серов В.В. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С / В.В. Серов, Л.О. Севергина // Архив патологии. – 1996. – №4. – С. 61–64.
12. Serov V.V. Morphological criteria for assessing the etiology, and the degree of activity of the process in viral chronic hepatitis B and C / V.V. Serov, L.O. Severgina // Archives of Pathology. – 1996. – N4. – P. 61–64.
13. Соловьева И.А. Состояние иммунного статуса у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С / И.А. Соловьева, А.А. Савченко, Г.П. Мартынова // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – №1. – С. 55–57.
14. Solovyova I.A. Of the immune status in children with chronic viral hepatitis B and C / I.A. Solovieva, A.A. Savchenko, G.P. Martynova // Pacific Medical Journal. – 2010. – N1. – P. 55–57.
15. Тихонова Е.П. Метаболические основы иммунореактивности при парентеральных гепатитах В и С / Е.П. Тихонова, Г.В. Булыгин. – Новосибирск: Наука, 2003. – 148 с.
16. Tikhonova E.P. Metabolic basis of immunoreactivity with parenteral hepatitis B and C / E.P. Tikhonova, G.V. Bulygin. – Novosibirsk: Nauka, 2003. – 148 p.
17. Шахгильдян И.В. Хронические вирусные гепатиты в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян, А.А. Ясинский, М.И. Михайлов [и др.] // Клинико-эпидемиологические и этно-экологические проблемы заболеваний органов пищеварения: мат-лы 8-й Восточно-Сибирской гастроэнтерологич. конф. с междунар. участием и Красноярской краевой гастроэнтерологич. конф., 17–18 апреля 2008 г. – Красноярск, 2008. – С. 246–253.
18. Shakhgildyan I.V. Chronic viral hepatitis in the Russian Federation / I.V. Shakhgildyan, A.A. Jasinski, M.I. Mikhailov et al. // Clinical and epidemiological and ethno-ecological problems of digestive diseases: Materials eighth East Siberian gastroenterology conference with international participation and the Krasnoyarsk regional gastroenterology conference., 17–18 April 2008 – Krasnoyarsk, 2008. – P. 246–253.
19. Шаханова И.Л. Экономические потери от инфекционной заболеваемости в России: величины и тенденции / И.Л. Шаханова, Л.А. Осипова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2005. – №4. – С. 14–25.
20. Shahanina I.L. Economic costs of infectious disease in Russia: the magnitude and trend / I.L. Shahanina., L.A. Osipova // Epidemiology and Infectious Diseases. – 2005. – N4. – P. 14–25.
21. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. Sloane-Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, N1. – P. 497–509.

Н.В.Тарасова, В.Г. Галонский

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ИНТЕНСИВНОСТЬ КАРИЕСА ЗУБОВ У ДЕТЕЙ-ИНВАЛИДОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ

УДК 616.314–002–036.22:
616.89–008.454–053.2

Статья посвящена анализу распространенности и интенсивности кариеса зубов у детей и подростков с различной степенью умственной отсталости, обоснованию необходимости разработки персонализированной программы профилактики и лечения стоматологических заболеваний у данной категории больных. В ходе исследования распространенность кариеса зубов у обследованного контингента определена как высокая. С увеличением степени тяжести умственной отсталости возрастало количество детей, имеющих кариес зубов.

Ключевые слова: умственно отсталые дети, дети-инвалиды, распространенность, интенсивность кариеса зубов.

This article analyzes the prevalence and intensity of dental caries in children and adolescents with varying degrees of mental retardation, the justification of the need for personalized prevention and treatment of dental disease in these patients. In the study, the prevalence of dental caries in the surveyed contingent defined as high. With increasing of severity of mental retardation increased the number of children with dental caries.

Keywords: mentally retarded children, children with disabilities, the prevalence, intensity of dental caries.

ТАРАСОВА Наталья Валентиновна – к.м.н., доцент ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ, tarasovastom1@mail.ru; **ГАЛОНСКИЙ Владислав Геннадьевич** – д.м.н., доцент Красноярского ГМУ, вед. н.с. НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, gvg73@bk.ru.

Приоритетом государственной политики Российской Федерации является сохранение и укрепление здоровья населения. Совершенствование оказания стоматологической помощи детскому населению страны и поддержание ее на современном уровне являются важной и актуальной проблемой, стоящей перед практическим здравоохранением [10]. Изучение стоматологической заболеваемости населения представ-

ляет важный этап решения данной проблемы. Кариес зубов, по данным ВОЗ, является широко распространенной патологией твердых тканей зубов [9]. Ситуационный анализ распространенности и интенсивности кариеса зубов показал, что уже в возрасте одного года у 15% детей обнаруживаются пораженные кариесом временные зубы, к 3 годам распространенность патологии достигает 46%, а к 6 годам