

УДК 616.36-002.2:616.988:577.15-053.2

НАРУШЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ПЕРВОЙ ФАЗЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ С И В

Е.А. Жукова, М.В. Грошовкина, С.В. Романова, Н.А. Каплина, Л.В. Коркоташвили,

ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии»

Грошовкина Мария Владимировна – e-mail: groshovkina@mail.ru

У детей с хроническими вирусными гепатитами С и В исследования нарушений функционирования ферментов 1-й фазы биотрансформации малочисленны. В настоящую работу вошло 88 больных хроническими HCV и HBV-инфекциями, набранных в условиях клиники патологии верхних отделов пищеварительного тракта Нижегородского научно-исследовательского института, соответственно 54 и 34 человека. У данных пациентов в сыворотке крови определялись активность алкогольдегидрогеназы по А. Shimasue, М. Murakami, Т. Tsubokuro, альдегиддегидрогеназы – прямой реакцией по методу Б.М. Кершенгольц и Е.В. Серкиной. При хронических вирусных воспалительных заболеваниях печени у детей независимо от их этиологии установлены изменения функционирования активности ферментов печени, а именно, повышение величины прямой и обратной алкогольдегидрогеназы ($p=0,005$, $p=0,007$) и снижение значений альдегиддегидрогеназы ($p=0,038$). Эти нарушения могут привести к развитию эндотоксикоза и обосновывают необходимость терапевтической коррекции.

Ключевые слова: хронические вирусные гепатиты С и В, алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа, кровь, дети.

The disorders in the first stage of biological transformation's enzymes functioning have been studied, but the scientific research in children with chronic viral hepatitis C and B are few. This study includes investigation of 88 children with chronic viral hepatitis C (54 cases) and B (34 cases) in clinic of the upper gastrointestinal tract pathology, Federal State Establishment «Nizhny Novgorod Research Institute of Children's Gastroenterology», Nizhny Novgorod. In blood serum we detected alcohol dehydrogenase activity according to A. Shimasue, M. Murakami, T. Tsubokuro, and aldehyde dehydrogenase activity by the use of direct reaction according to the B.M. Kershengolts and E.V. Serkina method. In children with liver chronic viral inflammatory diseases the changes of liver enzymes activity were established, irrespective of their etiology. We established the direct and backward alcohol dehydrogenase level increase ($p=0,005$; $p=0,007$) and aldehyde dehydrogenase level decrease ($p=0,038$). These disorders can lead to endotoxemia development and substantiate the therapeutic correction necessity.

Key words: chronic viral hepatitis C and B, alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, blood, children.

Введение

При хронических заболеваниях печени у детей большое значение имеет развитие синдрома интоксикации, обусловленного накоплением в организме промежуточных и конечных продуктов метаболизма в повышенных концентрациях. Одной из причин этого может быть нарушение механизмов биологической трансформации [1]. В ее первую фазу происходит превращение вредных веществ с помощью ферментов микросомального и немикросомального окисления. Последнее включает в себя дегидрирование метаболитов с участием алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы. В случае, если активность первой, окисляющей спирты до альдегидов, превышает таковую второй, необратимо переводящей альдегиды в нетоксичные кислоты, происходит увеличение количества вредных веществ, что может усугублять развитие эндогенной интоксикации [2].

Это может определять необходимость применения терапии, направленной на нормализацию активности данных ферментов, обладающей детоксицирующим эффектом.

Цель исследования: изучение изменений уровня ферментов немикросомального окисления первой фазы биотрансформации в сыворотке крови у детей с хроническими вирусными гепатитами С и В.

Материал и методы

На базе НИИ детской гастроэнтерологии Минздрава-соцразвития России обследовано 88 детей с хроническими вирусными гепатитами В и С, из них HCV-инфекция наблюдалась у 54 пациентов, HBV – у 34, из них мальчиков было 55 человек, девочек – 33.

Всем детям, поступившим в стационар, проводили комплексное обследование, включающее клинический осмотр, лабораторные и инструментальные исследования.

Для оценки функционального состояния печени определялись биохимические показатели по стандартным унифицированным методам [3].

Маркеры вирусных гепатитов С и В (анти-HCV суммарные, HBsAg, анти-HBs, HBeAg, анти-HBe IgG, анти-HBc суммарные, анти-HBc IgM) выявлялись иммуноферментным анализом с использованием наборов НПО «Диагностические системы» (г. Н.Новгород). Качественное и количественное определение РНК HCV, ДНК HBV в сыворотке крови осуществлялось методом полимеразной цепной реакции. Активность алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови определялась по А. Shimasue, М. Murakami, Т. Tsubokuro. Активность альдегиддегидрогеназы – прямой реакцией по методу Б.М. Кершенгольц и Е.В. Серкиной.

Контрольную группу составили 20 детей 1–2-й групп здоровья и принятыми условно за норму.

При постановке диагноза использовалась международная классификация хронических гепатитов, принятая Всемирным конгрессом гастроэнтерологов в Лос-Анджелесе (1994 г.), основанная на этиологическом принципе.

При оценке степени активности заболевания учитывалась выраженность отклонений показателей цитолиза от нормы.

Статистическая обработка. Для статистического анализа применялась программа Statistica, версия 6,0 for Windows XP. Описательная статистика признака включала среднее значение (M), ошибку средней величины (m), среднее квадратичное отклонение (δ). Для сравнения показателей между группами использовали критерии Стьюдента, Манна-Уитни. Различия считались достоверными при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p \leq 0,05$, как принято в биологии и медицине.

Среди детей с ХГС и ХГВ преобладали больные с репликацией вируса в крови – 69% и 76%, интeгративная и латентная фазы заболеваний выявлялись реже.

Среди наблюдаемых преобладали дети 8–17 лет – 85%. Давность заболевания до 3 лет составила 19%, больше 3 лет – у 81%.

При хронических вирусных гепатитах С и В у детей клинико-метаболические нарушения характеризовались астено-вегетативным синдромом, болями в эпигастрии и правом подреберье, диспептическими расстройствами. Ведущим симптомом была гепатомегалия.

Результаты и их обсуждение

У детей с хроническими вирусными гепатитами В и С выявлен дисбаланс ферментов немикросомального окисления первой фазы биотрансформации. Так, активность алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови, превращающей алкоголь в токсичные альдегиды, была повышена относительно уровня нормы. Так, ее уровень достоверно увеличился до $8,76 \pm 0,29$ нмоль/мл мин. по сравнению с соответствующим значением здоровых – $6,25 \pm 0,55$ нмоль/мл мин. ($p=0,005$). Следует отметить, что повышение этого показателя относительно нормы наблюдалось как при HCV, так и HBV-инфекциях – $9,05 \pm 0,41$ нмоль/мл мин., $8,48 \pm 0,49$ нмоль/мл мин. ($p=0,01$; $p=0,04$).

При хроническом гепатите установлены изменения содержания прямой алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови в зависимости от наличия вирусемии (таблицы 1 и 2). Повышение этого показателя относительно здоровых определялось при наличии РНК или ДНК вирусов в крови и составляло $9,40 \pm 0,49$ нмоль/мл мин. ($p=0,006$) при реактивации ХГС и $8,55 \pm 0,50$ нмоль/мл мин. ($p=0,05$) при репликации ХГВ. В латентную и интегративную фазы активность прямой алкогольдегидрогеназы достоверно не превышала норму – $7,88 \pm 0,64$ нмоль/мл мин. ($p=0,35$), $8,28 \pm 0,85$ нмоль/мл мин. ($p=0,13$). При этом у больных хроническим гепатитом С самые высокие значения фермента отмечались при вирусемии ($p=0,05$).

Следовательно, для хронических инфекционных заболеваний печени у детей характерно увеличение активности алкогольдегидрогеназы при положительных результатах обнаружения РНК HCV и ДНК HBV и близкие к значениям здоровых в отсутствие вирусов в крови. Это, по-видимому, является ответом системы детоксикации на наличие вирусемии.

ТАБЛИЦА 1.

Изменения ферментов 1-й фазы биотрансформации в сыворотке крови в зависимости от фазы хронического гепатита С у детей ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые дети	Фазы хронического вирусного гепатита С		p
		реактивация n=35	латентная n=13	
	1	2	3	
АДГ прямая, нмоль/мл мин.	$6,25 \pm 0,55$ n=10	$9,40 \pm 0,49$	$7,88 \pm 0,64$	p1-2=0,006 p1-3=0,35 p2-3=0,122
АДГ обратная, нмоль/мл мин.	$61,08 \pm 8,19$ n=10	$103,67 \pm 6,23$	$88,79 \pm 7,44$	p1-2=0,001 p1-3=0,04 p2-3=0,161
АцДГ, нмоль/мин. мг белка	$1,43 \pm 0,12$ n=20	$1,17 \pm 0,08$	$1,52 \pm 0,12$	p1-2=0,05 p1-3=0,82 p2-3=0,497

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

ТАБЛИЦА 2.

Изменения ферментов 1-й фазы биотрансформации в сыворотке крови в зависимости от фазы хронического гепатита В у детей ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые дети	Фазы хронического вирусного гепатита В		p
		репликация n=22	интеграция n=8	
	1	2	3	
АДГ прямая, нмоль/мл мин.	$6,25 \pm 0,55$ n=10	$8,55 \pm 0,50$	$8,28 \pm 0,85$	p1-2=0,05 p1-3=0,13 p2-3=0,8
АДГ обратная, нмоль/мл мин.	$61,08 \pm 8,19$ n=10	$91,98 \pm 6,77$	$107,90 \pm 7,07$	p1-2=0,02 p1-3=0,002 p2-3=0,39
АцДГ, нмоль/мин. мг белка	$1,43 \pm 0,12$ n=20	$0,77 \pm 0,06$	$0,73 \pm 0,18$	p1-2=0,000 p1-3=0,005 p2-3=0,56

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

Обращал на себя внимание тот факт (таблицы 3 и 4), что как при ХГС, так и при ХГВ изменения фермента были не взаимосвязаны с активностью воспалительного процесса. Так, у больных без цитолиза содержание прямой алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови равнялось соответственно $8,33 \pm 0,54$ нмоль/мл мин. и $8,45 \pm 0,53$ нмоль/мл мин., а при его наличии – $9,35 \pm 0,59$ нмоль/мл мин. и $8,46 \pm 0,75$ нмоль/мл мин. ($p=0,16$; $p=0,95$). Однако даже при неактивном процессе в печени значения фермента были увеличены относительно группы здоровых ($p=0,03$, $p=0,07$). Следовательно, у детей с хроническими вирусными гепатитами регистрировалась высокая активность прямой алкогольдегидрогеназы сыворотки крови независимо от выраженности цитолиза, что говорит о стойком нарушении системы детоксикации, сохраняющемся даже при стихании воспаления в печени и, по-видимому, препятствующем разрешению патологического процесса.

Известно, что промежуточные продукты метаболизма спиртов – альдегиды обезвреживаются алкогольдегидрогеназой в обратной реакции. Для эффективной детоксикации

необходимо равновесие между функциональной активностью ферментов [4].

ТАБЛИЦА 3.

Изменения ферментов 1-й фазы биотрансформации в сыворотке крови в зависимости от активности хронического гепатита С у детей ($M \pm t$)

Показатели	Здоровые дети	Активность хронического вирусного гепатита С		p
		неактивный n=16	активный n=27	
	1	2	3	
АДГ прямая, нмоль/мл мин.	6,25±0,55 n=10	8,33±0,54	9,35±0,59	p1-2=0,03 p1-3=0,01 p2-3=0,16
АДГ обратная, нмоль/мл мин.	61,08±8,19 n=10	102,15±8,75	100,69±7,06	p1-2=0,02 p1-3=0,01 p2-3=0,96
АцДГ, нмоль/мин. мг белка	1,43±0,12 n=20	1,27±0,11	1,34±0,12	p1-2=0,25 p1-3=0,37 p2-3=0,32

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

ТАБЛИЦА 4.

Изменения ферментов 1-й фазы биотрансформации в сыворотке крови в зависимости от активности хронического гепатита В у детей ($M \pm t$)

Показатели	Здоровые дети	Активность хронического вирусного гепатита В		p
		неактивный n=17	активный n=15	
	1	2	3	
АДГ прямая, нмоль/мл мин.	6,25±0,55 n=10	8,45±0,53	8,46±0,75	p1-2=0,07 p1-3=0,09 p2-3=0,95
АДГ обратная, нмоль/мл мин.	61,08±8,19 n=10	94,75±8,79	98,43±8,5	p1-2=0,07 p1-3=0,03 p2-3=0,98
АцДГ, нмоль/мин. мг белка	1,43±0,12 n=20	0,71±0,09	0,81±0,08	p1-2=0,000 p1-3=0,000 p2-3=0,59

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

Установлено, что у пациентов с хроническими вирусными гепатитами С и В выявлялось достоверное увеличение обратной алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови по сравнению с нормой – 97,70±4,30 нмоль/мл мин. и 61,08±8,19 нмоль/мл мин. (p=0,007). При этом при HCV инфекции ее уровень составил 102,14±5,84 нмоль/мл мин., а при HBV – 94,69±6,46 нмоль/мл мин. (p=0,01; p=0,002). Увеличение значения этого показателя подчеркивает существенные изменения в системе биотрансформации в печени, которые могут способствовать поддержанию эндотоксикоза.

Следует отметить, что концентрация данного фермента не зависела от наличия вирусемии при обеих инфекциях (таблицы 1 и 2). Уровень обратной алкогольдегидрогеназы был достоверно в 1,5–2 раза выше нормы как при реактивации и латентной фазе ХГС, так и репликации и интеграции ХГВ, что равнялось 103,67±6,23 нмоль/мл мин., 88,79±7,44 нмоль/мл мин. (p=0,001; p=0,04) и 91,98±6,77 нмоль/мл мин., 107,90±7,07 нмоль/мл мин. (p=0,02; p=0,002)

соответственно. Следовательно, у детей с хроническими вирусными гепатитами сохранялись нарушения функции фермента биотрансформации даже при отсутствии РНК и ДНК вирусов.

Также, как в прямой реакции, отчетливых изменений величин обратной алкогольдегидрогеназы в сыворотке крови при различной активности воспалительного процесса в печени не отмечалось. При наличии и в момент отсутствия ферментемии ее уровень был повышен относительно здоровых, составляя у детей с HCV-инфекцией 100,69±7,06 нмоль/мл мин. и 102,15±8,79 нмоль/мл мин.

Следовательно, у больных хроническими гепатитами вирусной этиологии отмечен высокий уровень алкогольдегидрогеназы в прямой и обратной реакции, связанный, по-видимому, с компенсаторной ее активацией в процессе обезвреживания токсических метаболитов. Это, возможно, обусловлено длительной персистенцией гепатотропных вирусов, вызывающих нарушение ферментных систем детоксикации в печени.

Особый интерес представляет изучение фермента немикросомального окисления первой фазы биотрансформации – альдегиддегидрогеназы сыворотки крови (таблицы 1-4), что обусловлено способностью ее необратимо обезвреживать альдегиды до нетоксичных кислот [5]. Его уровень при хронических вирусных гепатитах у детей был меньше нормы, равняясь 1,12±0,06 нмоль/мин. мг белка и 1,43 ±0,07 нмоль/мин. мг белка (p=0,038).

Установлено, что у больных ХГС показатель не отличался от здоровых и составил 1,28±0,07 нмоль/мин. мг белка (p=0,19). Тогда как при ХГВ активность фермента в сыворотке крови была снижена – 0,76±0,06 нмоль/мин. мг белка (p=0,000). Таким образом, при хроническом вирусном гепатите функция альдегиддегидрогеназы была недостаточной в условиях повышения активности алкогольдегидрогеназы, а у детей с HBV-инфекцией установлена выраженная депрессия данного фермента, причиной которой может быть истощение компенсаторных возможностей системы детоксикации из-за выраженного воспалительного процесса в печени.

Выявлено, что различия изменений уровня фермента в сыворотке крови в зависимости от фазы заболевания регистрировались только при вирусном гепатите С. Так, низкие значения альдегиддегидрогеназы наблюдались только при наличии вирусемии – 1,17±0,08 нмоль/мин. мг белка (p=0,05), а при ее отсутствии повышались до 1,52±0,12 нмоль/мин. мг белка (p=0,82), приближаясь к показателю здоровых детей. В то же время при репликации и интеграции ХГВ активность данного фермента была стойко ниже нормы и равнялась 0,77±0,06 нмоль/мин. мг белка, 0,73±0,18 нмоль/мин. мг белка (p=0,000; p=0,000). Следовательно, при хроническом гепатите В нарушения немикросомального окисления альдегидов системы детоксикации более значимы, что может быть связано с выраженностью цитотоксичных Т-клеточных реакций организма в ответ на экспрессию антигенов ДНК вируса на поверхность гепатоцита.

Сравнение средних значений фермента не позволило выявить достоверных его отличий с активностью заболевания. У детей ХГС как при отсутствии, так и наличии цитолиза уровень альдегиддегидрогеназы в сыворотке крови оставался неизменным относительно такового у здоровых и

составил $1,27 \pm 0,11$ нмоль/мин. мг белка, $1,34 \pm 0,12$ нмоль/мин. мг белка ($p=0,37$; $p=0,25$). В то время как при ХГВ он был значительно ниже, чем в норме – $0,71 \pm 0,09$ нмоль/мин. мг белка, $0,81 \pm 0,08$ нмоль/мин. мг белка ($p=0,000$; $p=0,000$). Следовательно, у детей с HBV-инфекцией нарушения ферментов биотрансформации более выражены, что может усугублять тяжелое его течение.

Выводы

Таким образом, у больных хроническими вирусными заболеваниями печени С и В отмечен дисбаланс ферментов немикросомального окисления первой фазы биотрансформации с повышением активности алкогольдегидрогеназы и депрессией альдегиддегидрогеназы в сыворотке крови, что свидетельствует об истощении резервных возможностей системы обезвреживания метаболитов и ксенобиотиков и может приводить к развитию эндотоксикоза, ухудшающего развитие патологического процесса в печени.

Это определяет необходимость применения в комплексном лечении больных ХГС и ХГВ препаратов, позволяющих воздействовать на активность данных ферментов системы детоксикации.



ЛИТЕРАТУРА

1. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. Эфферентная терапия. 2000. № 4. С. 3-14.
2. Ипатов Ю.П., Комарова Л.Г., Переслегина И.А., Шабунина Е.И. Ключи к проблеме гастроэнтерологических заболеваний у детей. Н. Новгород: Изд-во Волго-Вятской академии государственной службы, 1997. 217 с.
3. Шабунина Е.И., Комарова Л.Г., Кортоташвили Л.В. Справочник по лабораторной диагностике в педиатрии. Н. Новгород: Изд-во Волго-Вятской академии государственной службы, 2004. 95 с.
4. Ашмарин И.П. Алкогольдегидрогеназа млекопитающих – объект молекулярной медицины. Успехи биологической химии. 2003. Том 43. С. 3-18.
5. Соловьева А.Г. Активность альдегиддегидрогеназы печени и эритроцитов крыс в норме и при ожоговой токсемии: Автореф. канд. мед. наук. Нижний Новгород. 2005. 25 с.