

УДК 616.36-002.2:616.988.577.15-053.2

АКТИВНОСТЬ АРГИНАЗЫ СЛЮНЫ И СОДЕРЖАНИЕ ЭТОГО ФЕРМЕНТА В КРОВИ У ДЕТЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ В И С**С.А. Колесов, Л.В. Коркоташвили, А.Б. Языкова, С.В. Романова, М.В. Грошовкина,**

ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии Росмедтехнологии»

Колесов Сергей Алексеевич – e-mail: sakdom2@mail.ru

Исследована аргиназная активность смешанной слюны у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С (ХВГВ и ХВГС) и содержание аргиназы I в сыворотках их крови. Показано отсутствие отличий в количестве аргиназы в крови и наличие существенной разницы в активности аргиназы в слюне у детей с ХВГС по сравнению с детьми с ХВГВ и контрольной группой. Низкие коэффициенты корреляции между аргиназой крови и активностью аргиназы слюны свидетельствуют о самостоятельности этих биохимических феноменов. Высокая аргиназная активность слюны у детей с ХВГС связана с их стоматологическим статусом

Ключевые слова: смешанная слюна, сыворотка крови, аргиназа, дети, хронический вирусный гепатит С, хронический вирусный гепатит В.

Mixed saliva arginase activity and blood serum content of arginase type I were studied in children with chronic hepatitis type B and C. We founded an absence of differences in blood arginase amount and a great difference in mixed saliva arginase activity in children with chronic hepatitis type C in comparison with children with chronic hepatitis type B and control group.

A weak correlation between blood arginase and mixed saliva arginase activity indicate of that biological phenomena's independence. High mixed saliva arginase activity in children with chronic hepatitis type C is related to their mouth cavity's physiological status.

Key words: mixed saliva, blood serum, arginase, children, chronic hepatitis type B, chronic hepatitis type C.

Фермент аргиназа I или L-аргинин-аминогидролаза (КФ 3.5.3.1) был открыт в 1903 г. немецким биохимиком Косселем и считается органоспецифическим ферментом печени. Аргиназа катализирует гидролиз аргинина с образованием орнитина и мочевины. Поскольку нарушение синтеза мочевины ведет к повышению количества аммиака в тканях, общепринято мнение, что уровень активности аргиназы отражает степень детоксицирующей функции печени [1, 2]. Кроме того, имеются данные, что в клинических исследованиях определение аргиназы в сыворотке крови может использоваться как специфический маркер, позволяющий выявить повреждение печени на более раннем этапе, чем при исследовании аминотрансфераз [3], что немаловажно для проведения корректной терапии заболеваний печени, в том числе и хронических гепатитов.

Особо следует отметить, что в настоящее время можно ожидать увеличения интереса исследователей к аргиназе, поскольку доказано, что этот фермент может выступать в качестве лимитирующего фактора в процессе образования в организме окиси азота – уникального мессенджера, биологическая роль которого очень велика: физиологическое действие NO варьирует от модуляции сосудистой системы до регуляции иммунных процессов и контроля нейрональных функций [4].

Кроме печени аргиназная активность обнаружена и в иных органах, тканях и субстратах организма, в том числе в слюне [5]. Существование в организме гематосаливарного барьера, наличие обмена веществами между кровью и слюной, а также гомеостатическая роль этих биологических жидкостей друг для друга – все эти факты делают слюну способной в ряде случаев заменить кровь при проведении лабораторных исследований. Особенно привлекательным представляется использование слюны для педиатрической

практики, поскольку получение ротового секрета доступно и нетравматично. Все вышеперечисленное и определило цель исследования.

Целью исследования явилось определение количественного содержания аргиназы в сыворотке крови и аргиназной активности в смешанной слюне у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ) и хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС), а также изучение взаимосвязи между этими биохимическими показателями.

Материал и методы

Были обследованы 42 ребенка обоего пола в возрасте от 6 до 17 лет с диагнозом ХВГС (27 человек) и ХВГВ (15 больных), группа сравнения (49 человек) сформирована из детей с аналогичными половыми и возрастными характеристиками, страдающих atopическим дерматитом, хроническим энтеритом, гастродуоденальными заболеваниями, муковисцидозом, целиакией. Материалом для исследований служили образцы смешанной слюны (ротового секрета) и сыворотки крови, полученных от наблюдаемых детей с ХВГС и ХВГВ и группы сравнения. Слюну в объеме 3–5 мл собирали в пробирки (утром, натощак, до чистки зубов), затем ее центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об./мин., для анализа использовали супернатант. Сыворотку крови получали стандартным образом путем венепункции локтевой вены. Определение аргиназы в сыворотке крови осуществляли при помощи иммуноферментного набора «Аргиназа печени (сыворотка, ликвор), 96» производства «Bio Vendor» (Чехия), энзиматическую активность аргиназы в слюне определяли по методу В.А. Храмова [6].

Полученные данные подвергнуты статистической обработке, при этом нормальность распределения полученных данных оценивалась по критерию Колмогорова, определялись параметры описательной статистики анализируемых

выборок (средняя арифметическая и медиана), достоверность различий данных между группами определялась при помощи непараметрического метода Манна-Уитни, оценивался коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение

Статистический анализ полученных данных не выявил во всех анализируемых группах данных распределения, соответствующего нормальному. Результаты изучаемых показателей содержания аргиназы в сыворотке крови представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1.
Величины содержания аргиназы в сыворотке крови в исследованных группах детей

Статистические показатели	Содержание аргиназы в сыворотке крови (нг/мл)	
	Дети с ХВГВ	Дети с ХВГС
Количество исследований (n)	12	19
Средняя величина (M)	8,01	10,35
Медиана (Me)	8,81	7,2
Стандартное отклонение (δ)	3,16	10,1
Минимальное значение (Min)	0,7	2,8
Максимальное значение (Max)	12,1	48,8
Достоверность различий по критерию Манна-Уитни (p)	p=0,3270	

Установлено, что аргиназа выявлена в сыворотке крови у всех детей, больных хроническими вирусными гепатитами, при этом количество фермента у них существенно не отличается: 8,01 нг/мл (медиана – 8,81 нг/мл) в группе детей с ХВГВ и 10,35 нг/мл (медиана – 7,20 нг/мл) в группе детей с ХВГС. Следует отметить, что в настоящее время чувствительность имеющихся биохимических методов не позволяет осуществлять адекватную регистрацию активности аргиназы, присутствующей в сыворотке крови в подобных количествах.

Противоположная ситуация существует для исследования этого фермента в слюне: отсутствует возможность корректного определения количественного содержания аргиназы, но уровень активности фермента может быть проанализирован биохимическими методами. Результаты статистической обработки изучаемых показателей ферментативной активности аргиназы в слюне представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2.
Величины активности аргиназы слюны в исследованных группах детей

Статистические показатели	Активность аргиназа слюны (мМ/час/мл)		
	Дети с ХВГВ	Дети с ХВГС	Группа сравнения
Количество исследований (n)	15	27	49
Средняя величина (M)	82,34	33,24	69,74
Медиана (Me)	54,1	25,1	43,10
Стандартное отклонение (δ)	81,3	30,39	69,84
Минимальное значение (Min)	0,40	1,5	2,6
Максимальное значение (Max)	306,4	123,8	296,7
Достоверность различий по критерию Манна-Уитни	ХВГС – ХВГВ	p=0,0030	
	ХВГВ – контроль	p=0,4560	
	ХВГС – контроль	p=0,0002	

В смешанной слюне активность аргиназы присутствует у детей в обеих анализируемых группах: в группе с ХВГС среднее значение показателя составило 33,24 мМ/час/мл (значение медианы – 25,10 мМ/час/мл.), а в группе детей с ХВГВ в два раза выше – 82,34 мМ/час/мл (значение медианы – 54,10 мМ/час/мл). Известен факт, что большое количество биохимических веществ в слюне имеет свое происхождение из кровеносной системы. Л.В. Комаровой был открыт биохимический феномен регулирования постоянства крови слюной [7]. В связи с этими фактами вполне целесообразно предположить, что аргиназная активность в слюне исследуемых детей может быть обусловлена аргиназой печени, находящейся в кровотоке, а различия в энзиматической активности могут быть обусловлены разницей в кинетических свойствах фермента в разных группах детей. Для выяснения этого вопроса были проведены исследования корреляционных взаимосвязей между содержанием аргиназы в крови и активности аргиназы в слюне. В результате получены данные, что значения коэффициента корреляции (r) между количеством аргиназы в крови и уровнем аргиназной активности в слюне составили для детей с ХВГС – 0,09, а для детей с ХВГВ – 0,23. Как свидетельствуют полученные величины коэффициента корреляции, теснота связи между анализируемыми показателями либо отсутствует, либо незначительна, что позволяет предположить, что аргиназную активность слюны обеспечивает не аргиназа печени, а самостоятельный изофермент аргиназы из слюнных желез. О существовании различных изоэнзимов аргиназы в разных органах и о различном уровне ферментативной активности этих изоферментов известно из литературы [8, 9].

Интересным представляется вопрос о том, почему аргиназная активность в группе детей с ХВГВ в два раза отличается от таковой у детей с ХВГС. Для экспериментальных животных описаны факты индукции активности аргиназы избытком или недостатком белка в рационе [10], однако дети с различными формами гепатитов получали практически одинаковое питание, кроме того, имеются данные о строгом постоянстве внутриклеточного содержания аргинина, цитрулина и орнитина даже в условиях повышенной интенсивности экскреции мочевины. Известны работы, в которых отмечалось, что активность аргиназы не связана с изменением кинетических свойств ферментных молекул [11]. В связи с вышеизложенным нами была исследована аргиназная активность слюны в группе сравнения, сформированной из детей, страдающих atopическим дерматитом, хроническим энтеритом, муковисцидозом, целиакией и гастродуоденальными заболеваниями. Выяснено, что активность фермента в этой группе (средняя величина – 69,74, медиана – 43,10 мМ/час/мл) статистически неотлична от аргиназной активности у детей с ХВГВ (средняя величина – 82,34, медиана – 54,1 мМ/час/мл) и с высоким уровнем достоверности отличается от величины показателя при ХВГС (средняя величина – 33,24, медиана – 25,10 мМ/час/мл).

Известно, что у половины больных ХВГС отмечаются внепеченочные проявления заболевания, в том числе поражения ротовой полости: у них высока встречаемость симптомов заболеваний пародонта, имело место наличие пародонтита и гингивита (причем у больных ХВГС эти заболева-

ния представлены в основном генерализованными формами тяжелой и среднетяжелой степени) [12], лимфоцитарного сиалоаденита. Это обстоятельство позволило нам предположить, что нарушения стоматологического статуса являются причиной пониженной аргиназной активности слюны у детей с ХВГС. Для того чтобы подтвердить подобное предположение, нами проведено сравнение аргиназной активности слюны у детей с ХВГС и у детей, страдающих целиакией, поскольку нарушения стоматологического статуса являются одним из значимых клинических признаков целиакии [13]. В результате получены данные, что средняя величина аргиназной активности слюны у детей с целиакией составляет 36,12 мМ/час/мл (медиана – 34,2 мМ/час/мл), то есть она существенно ниже, чем в группе сравнения (средняя величина – 69,74, медиана – 43,10 мМ/час/мл) и статистически неотлична от таковой у детей с ХВГС (средняя величина – 33,24, медиана – 25,10 мМ/час/мл). Косвенным подтверждением нашего предположения является и тот факт, что автор методики определял аргиназную активность слюны у небольшой группы взрослых, больных хроническим парадонтозом, и также выявил тенденцию к снижению активности фермента [6].

На наш взгляд, биохимическим механизмом, обеспечивающим снижение активности аргиназы слюны при парадонтологических поражениях ротовой полости, является необходимость борьбы с инфекцией. По данным литературы [4] аргинин, не утилизированный аргиназой, используется для синтеза оксида азота, одной из функций которого является как прямое участие в борьбе с инфекцией, так и стимулирование иммунного ответа на нее. Благодаря этому в организме больных устанавливается своеобразная динамическая зависимость между факторами агрессии (инфекция ротовой полости) и защитными реакциями организма.

Выводы

1. Средние величины содержания аргиназы I (аргиназы печени) в сыворотке крови детей, больных хроническим вирусным гепатитом В и хроническим вирусным гепатитом С, статистически неотличимы и составляют 8,01 и 10,35 нг/мл соответственно.

2. Средние величины аргиназной активности слюны в группе детей, больных хроническим вирусным гепатитом В,

в два раза выше уровня этого показателя больных хроническим вирусным гепатитом С и составляют 82,34 и 33,24 мМ/час/мл соответственно.

3. Аргиназная активность слюны обусловлена энзиматической активностью изофермента аргиназы из слюнных желез и не связана с активностью аргиназы I (аргиназы печени).

4. Снижение аргиназной активности слюны у детей с хроническим вирусным гепатитом С, по всей видимости, является внепеченочным проявлением хронического вирусного гепатита С, и характеризуется изменениями стоматологического статуса, характерного для этого заболевания.

МА

ЛИТЕРАТУРА

1. Хочаков П.Н. Стратегия биохимической адаптации. М.: «Мир», 1977. С. 250.
2. Гречанина Е.Я. Наследственные нарушения метаболизма (продолжение). Здоровье Украины. 2003. № 82. С. 4-5.
3. Аргиназа печени. http://laboratory.rusmedserv.com/files/22_Pechen.pdf. 05. 10. 20010.
4. Бабушкина А.В. L-аргинин с точки зрения доказательной медицины. Укр. мед. часопис. 2009. № 6 (74). С. 43-48.
5. Храмов В.А. Утилизация аминокислот и мочевины ротовой жидкостью человека. Стоматология. 1997. № 6. С. 35-38.
6. Храмов В.А., Островский О.В., Косицина О.В. и др. Определение активности аргиназы в слюне. Лабораторное дело. 1984. № 8. С. 481-482.
7. Комарова Л.Г., Алексеева О.П. Новые представления о функции слюнных желез в организме (клинико-биохимический аспект): Монография. Н. Новгород: Нижегородский НИИ детск. гастроэнтерологии, военно-мед. фак-т при Нижегород. мед. ин-те, 1994. С. 96.
8. Арутюнян Л.М. О взаимосвязи аргиназы и биосинтеза пролина в различных органах крыс: Дис. ... канд. биол. наук. Ереван. 1984. С. 120.
9. Диксон М., Узбб Э. Ферменты. Т. 3. М.: «Мир», 1982. С. 909.
10. Schimke E.T. Studies on factors effecting the levels of urea cycle enzyme in rat liver. J. Biol. Chem. 1963. № 238. P. 1012-1020.
11. Крицман М.Г., Конилова А.С. Индукция ферментов в норме и патологии. М.: «Медицина», 1968. С. 309.
12. Фазылова Ю.В. Особенности парадонтологического статуса у больных с хронической HCV-инфекцией. РЖГК. 2009. № 1. С. 50.
13. Эммануэль В.Л., Ревнова О.М., Вохмянина О.П. Клинические проявления целиакии у детей Санкт-Петербурга. Клиническая лабораторная диагностика. 2000. № 11. С. 11.