

А.А. Алиева, Х.М. Галимзянов

ДИНАМИКА ДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С МИНИМАЛЬНОЙ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНДЕРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России

Вирусный гепатит С является прогрессирующей хронической инфекцией с постоянным ростом заболеваемости как во всем мире, так и в Российской Федерации. Представлены результаты исследования дегидрогеназной активности нейтрофилов и моноцитов крови у больных хроническим вирусным гепатитом С минимальной степени активности в зависимости от гендерных особенностей.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, дегидрогеназная активность, гендерные особенности.

A.A. Alieva, H.M. Galimzyanov

THE DYNAMICS OF DEHYDROGENASE ACTIVITY OF IMMUNE CELLS IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C WITH MINIMAL DEGREE OF ACTIVITY FROM GENDER FEATURES

Hepatitis C virus (HCV) is the progressive chronic infection with the constant rise in morbidity worldwide and in the Russian Federation. The results of investigation of dehydrogenase activity of neutrophils and monocytes in patients with chronic viral hepatitis C with minimal activity from gender features are represented.

Key words: chronic viral hepatitis C, dehydrogenase activity, gender features.

Введение. Вирусный гепатит С занимает лидирующее место среди гепатотропных инфекций в развитых странах, где инфицировано 1–2 % населения [11]. В России больных хроническими формами и носителей HCV не менее 2 млн человек [1]. Отчетливо прослеживаемая в Российской Федерации тенденция к омоложению хронического вирусного гепатита С, его широкое распространение среди потребителей инъекционных наркотиков определяет эпидемиологическую обстановку как напряженную, являющую собой серьезную медико-социальную проблему, которая угрожает здоровью нации и наносит огромный экономический ущерб [4].

Современные подходы к оценке и коррекции состояния ряда энергообеспечивающих систем организма в норме и при наличии патологии невозможны без цитохимического изучения клеток крови [3, 5, 6]. Цитохимический анализ является высокоинформативным и относительно доступным методом изучения клетки. Изучению цитохимической активности нейтрофила и моноцита уделяется гораздо меньше внимания, между тем эти клетки играют огромную роль в неспецифическом иммунитете [7, 9, 10].

Цель: изучить динамику дегидрогеназной активности нейтрофилов и моноцитов крови у больных хроническим вирусным гепатитом С минимальной степени активности в зависимости от гендерных особенностей в динамике лечения.

Задачи:

- 1) исследовать активность окислительно-восстановительных ферментов в нейтрофилах крови у больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) минимальной степени активности в зависимости от гендерных особенностей до лечения;
- 2) изучить активность вышеуказанных ферментов в моноцитах крови у больных ХВГС минимальной степени активности в зависимости от гендерных особенностей до лечения;
- 3) провести сравнительный анализ изменения ферментативной активности нейтрофилов и моноцитов крови у больных ХВГС в зависимости от гендерных особенностей на фоне базисной терапии.

Материалы и методы исследования. Было обследовано 60 больных ХВГС минимальной степени активности, находившихся на лечении в ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая больница имени А.М. Ничоги» г. Астрахани в 2009–2012 гг. Критерии включения в исследование: наличие маркеров ХВГС, неупотребление наркотических веществ и алкоголя в анамнезе, отсутствие в анамнезе токсико-алиментарного гепатита, а также противовирусной терапии. Критерии исключения: обнаружение маркеров хронического гепатита В, употребление наркотических веществ внутривенно, злоупотребление алкоголем, наличие токсико-алиментарного гепатита, противовирусная терапия в анамнезе. На всех больных были оформлены информированные согласия на обследование и лечение. Среди обследованных пациентов было 70 % мужчин и 30 % женщин. Средний возраст больных составлял $26,7 \pm 3,5$ лет.

Было проведено цитохимическое исследование ферментативной активности нейтрофилов и моноцитов в динамике заболевания: до и после лечения. Нейтрофилы определяли в мазке из цельной крови. Выделение моноцитов проводили по методике И.С. Фрейдлин [8]. Исследовали окислительно-восстановительные ферменты: сукцинатдегидрогеназа (СДГ), отражающая цикл Кребса; лактатдегидрогеназа (ЛДГ), отражающая анаэробный гликолиз; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ), отражающая активность пентозо-фосфатного шунта. Определение дегидрогеназной активности проводили по методу Р.П. Нарциссова [2], но с применением нитросинего тетразолия. Подсчет результатов проводили полуколичественным методом Капlou, в основе которого лежит распределение всех клеточных элементов по группам в зависимости от интенсивности окраски и количества выявляемого в клетке цитохимически активного вещества. К нулевой группе относили клетки без гранул. В первую группу включали клетки низкой степени активности, содержащие единичные гранулы, или же клетки, в которых площадь окраски занимала до 25 % цитоплазмы (степень «а»). Ко второй группе относили клетки средней степени активности, то есть те, цитоплазма которых была заполнена гранулами на 30–70 % (степень «б»). К третьей группе относили клетки высокой степени активности, то есть заполненные гранулами на 70–100 % независимо от того, контролировалось ядро или нет (степень «в»). Для определения среднего цитохимического показателя (СЦП) в мазке подсчитывали 100 клеток (нейтрофилов или моноцитов в зависимости от вида мазка). При этом СЦП определяли по формуле: $\text{СЦП} = a + 2b + 3v$.

Математическую обработку полученных цитохимических данных проводили с использованием программы Microsoft Office Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. У мужчин, больных ХВГС минимальной степени активности (табл. 1), наблюдались следующие изменения в метаболизме нейтрофилов. До лечения отмечалось небольшое угнетение активности цикла Кребса ($\text{СЦП}_{\text{СДГ}} = 14,11 \pm 0,02$ у.е., при норме $15,04 \pm 0,02$ у.е.). Несколько больше был угнетен анаэробный гликолиз ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 18,13 \pm 1,04$ у.е., при норме $20,17 \pm 0,02$ у.е.). Больше всего была угнетена активность пентозофосфатного шунта ($\text{СЦП}_{\text{Г-6-ФДГ}} = 28,15 \pm 1,36$ у.е., при норме $35,30 \pm 0,03$ у.е.). Все реагирующие клетки расценивались как степень «а». Клетки степеней «б» и «в» не встречались.

Таблица 1

Динамика ферментативной активности метаболитических ферментов в нейтрофилах мужчин с ХВГС минимальной степени активности на фоне базисной терапии

Фермент	Время обследования	% реагирующих клеток	Степени реакции			СЦП, у.е.
			а	б	в	
СДГ	норма	$15,04 \pm 0,02$	$15,04 \pm 0,02$	0	0	$15,04 \pm 0,02$
	до лечения	$14,11 \pm 0,02$	$14,11 \pm 0,02$	0	0	$14,11 \pm 0,02$
	после лечения	$18,12 \pm 1,21$	$18,12 \pm 1,21$	0	0	$18,12 \pm 1,21$
ЛДГ	норма	$20,17 \pm 0,02$	$20,17 \pm 0,02$	0	0	$20,17 \pm 0,02$
	до лечения	$18,13 \pm 1,04$	$18,13 \pm 1,04$	0	0	$18,13 \pm 1,04$
	после лечения	$19,31 \pm 0,14$	$19,31 \pm 0,14$	0	0	$19,31 \pm 0,14$
Г-6-ФДГ	норма	$35,30 \pm 0,03$	$35,30 \pm 0,03$	0	0	$35,30 \pm 0,03$
	до лечения	$28,15 \pm 1,36$	$28,15 \pm 1,36$	0	0	$28,15 \pm 1,36^*$
	после лечения	$31,13 \pm 1,43$	$31,13 \pm 1,43$	0	0	$31,13 \pm 1,43$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

После проведенного курса базисной терапии активность СДГ у мужчин несколько превышала таковую в норме ($18,12 \pm 1,21$ у.е.), средний цитохимический показатель анаэробного гликолиза практически достигал такового в норме ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 19,31 \pm 0,14$ у.е.), активность пентозофосфатного шунта

имела тенденцию к нормализации, не достигая нормальных цифр ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 31,13 \pm 1,43$ у.е.). Качественного перераспределения реагирующих клеток не происходило, все клетки были степени «а».

Несколько больше был угнетен анаэробный гликолиз ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 18,13 \pm 1,04$ у.е., при норме $20,17 \pm 0,02$ у.е.). Больше всего была угнетена активность пентозофосфатного шунта ($\text{СЦП}_{\text{Г-6-ФДГ}} = 28,15 \pm 1,36$ у.е., при норме $35,30 \pm 0,03$ у.е.). Все реагирующие клетки расценивались как степень «а». Клетки степеней «б» и «в» не встречались.

После проведенного курса базисной терапии активность СДГ у мужчин несколько превышала таковую в норме ($18,12 \pm 1,21$ у.е.), средний цитохимический показатель анаэробного гликолиза практически достигал такового в норме ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 19,31 \pm 0,14$ у.е.), активность пентозофосфатного шунта имела тенденцию к нормализации, не достигая нормальных цифр ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 31,13 \pm 1,43$ у.е.). Качественного перераспределения реагирующих клеток не происходило, все клетки были степени «а».

У женщин данной группы до лечения (табл. 2), в отличие от мужчин, отмечалось напряжение метаболизма нейтрофилов. Так, $\text{СЦП}_{\text{СДГ}}$ составил $21,12 \pm 0,24$ у.е., $\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}}$ – $24,45 \pm 0,12$ у.е., а $\text{СЦП}_{\text{Г-6-ФДГ}}$ – $38,10 \pm 1,02$ у.е. Качественно все реагирующие клетки были низшей степени активности (степень «а»).

Таблица 2

Динамика ферментативной активности метаболитических ферментов в нейтрофилах женщин с ХВГС минимальной степени активности на фоне базисной терапии

Фермент	Время обследования	% реагирующих клеток	Степени реакции			СЦП, у.е.
			а	б	в	
СДГ	норма	$15,04 \pm 0,02$	$15,04 \pm 0,02$	0	0	$15,04 \pm 0,02$
	до лечения	$21,12 \pm 0,24$	$21,12 \pm 0,24$	0	0	$21,12 \pm 0,24^*$
	после лечения	$16,12 \pm 1,21$	$16,12 \pm 1,21$	0	0	$16,12 \pm 1,21$
ЛДГ	норма	$20,17 \pm 0,02$	$20,17 \pm 0,02$	0	0	$20,17 \pm 0,02$
	до лечения	$24,45 \pm 0,12$	$24,45 \pm 0,12$	0	0	$24,45 \pm 0,12^*$
	после лечения	$21,31 \pm 0,15$	$21,31 \pm 0,15$	0	0	$21,31 \pm 0,15$
Г-6-ФДГ	норма	$35,30 \pm 0,03$	$35,30 \pm 0,03$	0	0	$35,30 \pm 0,03$
	до лечения	$38,10 \pm 1,02$	$38,10 \pm 1,02$	0	0	$38,10 \pm 1,02^*$
	после лечения	$34,13 \pm 1,03$	$34,13 \pm 1,03$	0	0	$34,13 \pm 1,03^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

На фоне базисной терапии происходила полная нормализация активности цикла Кребса ($\text{СЦП}_{\text{СДГ}} = 16,12 \pm 1,21$ у.е.), анаэробного гликолиза ($\text{СЦП}_{\text{ЛДГ}} = 21,31 \pm 0,15$ у.е.) и активности пентозофосфатного шунта ($\text{СЦП}_{\text{Г-6-ФДГ}} = 34,13 \pm 1,03$ у.е.). Перераспределения качественной активности клеток не происходило.

У мужчин, больных ХВГС с минимальной степенью активности (табл. 3), до лечения отмечалось резкое угнетение активности СДГ в моноцитах ($5,25 \pm 2,21$ у.е.), что ниже нормы в 4 раза. Активность ЛДГ также была снижена в данный период, но значительно меньше ($12,34 \pm 0,02$ у.е.), прямо противоположная реакция наблюдалась относительно активности Г-6-ФДГ в моноцитах. Активность данного фермента до лечения резко увеличивалась, достигая значения $31,25 \pm 0,04$ у.е., что в 2 раза превышало нормальные показатели.

Таблица 3

Динамика ферментативной активности метаболитических ферментов в моноцитах мужчин с ХВГС минимальной степени активности на фоне базисной терапии

Фермент	Время обследования	% реагирующих клеток	Степени реакции			СЦП, у.е.
			а	б	в	
СДГ	норма	$20,04 \pm 0,02$	$20,04 \pm 0,02$	0	0	$20,04 \pm 0,02$
	до лечение	$5,25 \pm 2,21$	$5,25 \pm 2,21$	0	0	$5,25 \pm 2,21^*$
	после лечения	$3,18 \pm 0,24$	$3,18 \pm 0,24$	0	0	$3,18 \pm 0,24$
ЛДГ	норма	$15,13 \pm 0,02$	$15,13 \pm 0,02$	0	0	$15,13 \pm 0,02$
	до лечение	$12,34 \pm 0,02$	$12,34 \pm 0,02$	0	0	$12,34 \pm 0,02^*$
	после лечения	$9,14 \pm 0,06$	$9,14 \pm 0,06$	0	0	$9,14 \pm 0,06^{* **}$
Г-6-ФДГ	норма	$15,60 \pm 0,03$	$15,60 \pm 0,03$	0	0	$15,60 \pm 0,03$
	до лечение	$31,25 \pm 0,04$	$31,25 \pm 0,04$	0	0	$31,25 \pm 0,04^*$
	после лечения	$18,12 \pm 0,15$	$18,12 \pm 0,15$	0	0	$18,12 \pm 0,15^{* **}$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** – $p < 0,05$ при сравнении до и после лечения

После применения базисной терапии активность СДГ в моноцитах больных данной группы продолжала снижаться, достигая $3,18 \pm 0,24$ у.е., что ниже нормальных цифр в 6,3 раза. Активность ЛДГ после применения базисной терапии также продолжала снижаться ($9,14 \pm 0,06$ у.е.) и была ниже нормы в 1,7 раза. Активность Г-6-ФДГ после лечения имела четко выраженную тенденция к нормализации, но не достигала нормальных показателей ($18,12 \pm 0,15$ у.е.).

Все реагирующие моноциты как до лечения, так и после применения базисной терапии были низшей степени активности (степень «а»).

В моноцитах женщин данной группы (табл. 4) активность СДГ до лечения в 1,5 раза превышала таковую в норме ($29,81 \pm 0,02$ у.е.). При этом СЦП реакции формировался исключительно клетками высшей степени активности (степень «в»), которых было мало ($9,92 \pm 0,02$ %). Активность ЛДГ до лечения также была выше нормальной ($29,88 \pm 1,12$ у.е.), СЦП также был сформирован клетками степени «в». Активность Г-6-ФДГ, напротив, до лечения была резко угнетена ($9,09 \pm 1,02$ у.е.). При этом было всего $3,03 \pm 1,02$ % реагирующих моноцита, которые классифицировались как степень «в».

Таблица 4

Динамика ферментативной активности метаболических ферментов в моноцитах женщин с ХВГС минимальной степени активности на фоне базисной терапии

Фермент	Время обследования	% реагирующих клеток	Степени реакции			СЦП, у.е.
			а	б	в	
СДГ	норма	$20,04 \pm 0,02$	$20,04 \pm 0,02$	0	0	$20,04 \pm 0,02$
	до лечения	$9,92 \pm 0,02$	0	0	$9,92 \pm 0,02$	$29,76 \pm 0,02^*$
	после лечения	$22,72 \pm 1,02$	$22,72 \pm 1,02$	0	0	$22,72 \pm 1,02^{**}$
ЛДГ	норма	$15,13 \pm 0,02$	$15,13 \pm 0,02$	0	0	$15,13 \pm 0,02$
	до лечения	$9,96 \pm 0,15$	0	0	$9,96 \pm 0,15$	$29,88 \pm 1,12^*$
	после лечения	$11,7 \pm 0,11$	0	0	$11,7 \pm 0,11$	$35,1 \pm 1,02^* **$
Г-6-ФДГ	норма	$15,60 \pm 0,03$	$15,60 \pm 0,03$	0	0	$15,60 \pm 0,03$
	до лечения	$3,03 \pm 1,02$	0	0	$3,03 \pm 1,02$	$9,09 \pm 1,02^*$
	после лечения	$26,12 \pm 1,14$	$26,12 \pm 1,14$	0	0	$26,12 \pm 1,14^* **$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** – $p < 0,05$ при сравнении до и после лечения

После курса базисной терапии активность СДГ имела тенденцию к нормализации, не достигая нормальных показателей ($22,72 \pm 1,02$ у.е.). Кроме того, произошло качественное перераспределение клеточной активности – все клетки были степени «а».

Активность ЛДГ после базисной терапии у женщин данной группы продолжала повышаться, достигая $35,1 \pm 1,02$ у.е. Все реагирующие моноциты по-прежнему классифицировались как степень «в».

Применение базисной терапии вызвало резкое напряжение активности ранее угнетенной Г-6-ФДГ, которое привело к увеличению СЦП в 1,7 раза по сравнению с нормой ($26,12 \pm 1,14$ у.е.). Все реагирующие клетки классифицировались как степень «а».

Закключение. У больных ХВГС с минимальной активностью наблюдались существенные отличия активности метаболических ферментов иммунокомпетентных клеток в зависимости от гендерных особенностей.

У мужчин до лечения в нейтрофилах отмечалось угнетение активности анаэробного гликолиза и пентозофосфатного шунта, активность цикла Кребса оставалась в пределах нормы. После курса базисной терапии имела тенденция к нормализации анаэробного гликолиза и пентозо-фосфатного шунта.

У женщин данной группы до лечения изменения функциональной активности носили прямо противоположный характер. Наблюдалось напряжение активности всех трех метаболических ферментов. После курса базисной терапии в нейтрофилах у женщин полностью нормализовалась активность цикла Кребса и анаэробного гликолиза. Активность пентозофосфатного шунта оставалась напряженной.

Кроме количественных изменений, произошли качественные изменения состава реагирующих клеток. Они носили конкордантный характер у мужчин и женщин, то есть имели одинаковую направленность. Так, при всех метаболических реакциях все реагирующие нейтрофилы были степени «а» независимо от времени исследования.

Были обнаружены дискордантные изменения метаболических ферментов в моноцитах у мужчин и женщин до лечения. Так, у мужчин активность цикла Кребса и анаэробного гликолиза была снижена и обеспечена клетками степени «а», а у женщин – повышена и обеспечена клетками степени «в». Активность пентозо-фосфатного шунта у мужчин была повышена, у женщин – снижена.

После лечения наблюдалась аналогичная картина: имелись дискордантные изменения активности всех исследуемых ферментов.

Список литературы

1. Баранов, А. В. Эпидемиологические и клинические особенности хронического гепатита С / А. В. Баранов, В. В. Малеев // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 2. – С. 32–35.
2. Нарциссов, Р. П. Применение п-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека / Р. П. Нарциссов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1969. – № 5. – С. 85–91.
3. Николаева, Л. И. Иммуитет при разных формах гепатита С / Л. И. Николаева, Л. В. Оленина, Е. Ф. Колесанова // Russian J. of Immunology. – 2009. – Т. 4, № 2. – С. 91–112.
4. Онищенко, Г. Г. Распространение вирусных гепатитов как угроза национальной безопасности / Г. Г. Онищенко, Л. А. Деметьева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2003. – № 4. – С. 93–99.
5. Пигаревский, В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства / В. Е. Пигаревский. – М. : Медицина, 1978. – 128 с.
6. Пигаревский, В. Е. Полиморфноядерный лейкоцит и макрофаг в реакциях воспаления и гиперчувствительности / В. Е. Пигаревский // Архив патологии. – 1983. – Т. 15, № 11. – С. 14–22.
7. Фрейдлин, И. С. Иммунная система и ее дефекты / И. С. Фрейдлин. – СПб. : НТФФ «Полисан», 1998. – 112 с.
8. Фрейдлин, И. С. Система мононуклеарных фагоцитов / И. С. Фрейдлин. – М. : Медицина, 1989. – 272 с.
9. Belkaid, Y. Natural regulatory T cells in infectious disease / Y. Belkaid, B. T. Rouse // Nature Immunol. – 2005. – Vol. 6, № 4. – P. 353–360.
10. Cabrera, R. An immunomodulatory role for CD4(+) CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection / R. Cabrera, Z. Tu, Y. Xu et al. // Hepatology. – 2004. – Vol. 40, № 5. – P. 1062–1071.
11. Desmet, V. J. Classification of chronic hepatitis : diagnosis, grading and staging / V. J. Desmet, M. Gerber, J. H. Hoofnagle // J. Hepatol. – 2004. – Vol. 19, № 6. – P. 1513–1520.

Алиева Алтынай Асылбековна, очный аспирант третьего года обучения кафедры инфекционных болезней, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, 414011, г. Астрахань, ул. Началовское шоссе, д. 7, тел. : 8-917-098-55-61, e-mail: altynai_aibolit@mail.ru.

Галимзянов Халил Мингалиевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru.

УДК 616.12-008.331.1:611-018.74

© А.Х. Ахминеева, О.С. Полунина, Л.П. Воронина, И.В. Севостьянова, 2013

А.Х. Ахминеева, О.С. Полунина, Л.П. Воронина, И.В. Севостьянова

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СОСТОЯНИЯ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России

Проведена диагностика поражения сосудистого эндотелия у больных гипертонической болезнью на основе изучения полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота, состояния вазорегулирующей функции эндотелия, эндотелина-1 и уровня натрийуретического пептида типа С. Было обследовано 30 больных ГБ и 27 соматически здоровых лиц Астраханского региона в качестве контрольной группы. У больных гипертонической болезнью наблюдалось развитие эндотелиальной дисфункции, преимущественно умеренно выраженной. Выявлено влияние VNTR-полиморфизма на функциональное состояние сосудистого эндотелия и продукцию эндотелина-1 и натрийуретического пептида типа С при гипертонической болезни.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота, эндотелин-1, натрийуретический пептид типа С, эндотелиальная дисфункция.