

Н.Г. Муравьева, А.А. Савченко, В.Т. Манчук

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО СТАТУСА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ДИСФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ БИЛИАРНОГО ТРАКТА И ПРИ ИХ АССОЦИИ С ЛЯМБЛИОЗОМ*Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера СО РАМН (Красноярск)*

При исследовании уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у детей с дисфункциональными расстройствами билиарного тракта (ДРБТ) и с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом установлены значительные изменения в системе внутриклеточного метаболизма. У детей с ДРБТ в лимфоцитах крови снижены уровни субстратного потока по терминальным реакциям гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, что определяет ингибирование, соответственно, анаэробного и аэробного дыхания клеток. У детей с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом установлено, в лимфоцитах крови при сохранении интенсивности терминальных реакций анаэробного гликолиза на уровне нормы снижается активность ферментов, определяющих состояние аэробного дыхания. Независимо от наличия или отсутствия лямблиоза у детей с ДРБТ снижена активность пентозофосфатного цикла, что характеризует ингибирование соответствующих реакций макромолекулярного синтеза.

Ключевые слова: дисфункциональные расстройства билиарного тракта, лямблиоз, метаболизм, лимфоциты

THE ENZYMATIC STATUS FEATURES IN BLOOD LYMPHOCYTES IN CHILDREN WITH DYSFUNCTIONAL DISORDERS OF BILIARY TRACT AND THEIR ASSOCIATION WITH GIARDIASIS

N.G. Muravyeva, A.A. Savchenko, V.T. Manchuk

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North SB RAMS, Krasnoyarsk

In the study of NAD(P)-dependent dehydrogenases activity in blood lymphocytes in children with dysfunctional disorders of the biliary tract (DDBT) and DDBT in association with giardiasis detected significant changes in the intracellular metabolism. In children with DDBT in blood lymphocytes the levels of substrate flow decreased at the terminal reactions of glycolysis and the tricarboxylic acid cycle, which determines the inhibition, respectively, anaerobic and aerobic cellular respiration. It's been established that in blood lymphocytes of children with DDBT, associated with giardiasis, the activity of enzymes determining the state of aerobic respiration is reduced, while maintaining the normal level of intensity of the terminal reactions of anaerobic glycolysis. Regardless of the presence or absence of giardiasis in children with DDBT the activity of pentose phosphate cycle is reduced which characterizes the inhibition of the reactions of macromolecular synthesis.

Key words: dysfunctional disorders of the biliary tract, giardiasis, metabolism, lymphocytes

Изучение патогенеза заболеваний билиарного тракта у детей сохраняет свою актуальность, что обусловлено высокой распространенностью и неуклонным ростом данной патологии. Так, по сравнению с 1999 годом общее количество детей, страдающих заболеваниями желчного пузыря и желчевыводящей системы, увеличилось с 9,9 до 14,4 % [1]. Наиболее распространенной патологией билиарного тракта у детей являются заболевания желчевыводящей системы функционального характера (50 – 95 %) [3]. Длительное их существование может приводить к органическим изменениям желчевыводящей системы: хронический холецистит – хронический холецистит с билиарным сладжем – хронический калькулезный холецистит, что происходит в результате нарушения коллоидной стабильности желчи и присоединения воспалительного процесса [6]. В формировании дисфункциональных расстройств билиарного тракта (ДРБТ) имеет значение нарушение механизмов нейрогуморальной регуляции. Вместе с тем иммунная система по своей природе является регуляторной и также может вносить свой вклад в патогенез ДРБТ. Кроме того,

нейроэндокринная и иммунная системы тесно взаимосвязаны и функционируют как единое целое, в связи с чем нарушение механизмов нейрогуморальной регуляции должно быть отражено и на состоянии иммунной системы. С этой точки зрения наиболее информативными являются метаболические ферменты клеток иммунной системы, которые отражают не только функциональную активность лимфоцитов, но и основную стратегию нейрогуморальной регуляции организма. Часто ДРБТ сопутствует паразитарная инфекция – лямблиоз. Это заболевание является широко распространенным – 350 случаев на 100 тыс. детского населения. В Российской Федерации регистрируется около 150 тыс. случаев в год, из них 80 % составляют дети в возрасте до 14 лет [4]. Лямблии, попадая в организм, значительно изменяют состояние иммунной системы, что определяет актуальность изучения метаболизма лимфоцитов при данной сочетанной патологии.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей метаболического статуса лимфоцитов крови у детей с ДРБТ и при их ассоциации с лямблиозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В детском гастроэнтерологическом отделении НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН проведено комплексное клиничко-инструментальное обследование 75 детей с ДРБТ. Диагноз был выставлен в соответствии с диагностическими критериями, указанными в Римском консенсусе II. Сопутствующий диагноз — лямблиоз — поставлен на основании результатов дуоденального зондирования, копрологического исследования. В обследование были включены дети в возрасте от 7 до 11 лет. Всем детям при поступлении в стационар проводилось клиничко-анамнестическое обследование, общий анализ крови и мочи, биохимическое исследование крови, эзофагогастродуоденоскопия, ультразвуковое исследование органов брюшной полости с определением моторной функции желчного пузыря и состояния сфинктера Одди, дуоденальное зондирование. В качестве контроля обследовано 100 детей I и II групп здоровья аналогичного возраста.

Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови проводили биolumинесцентным методом [5]. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДНЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДНМДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ, НАДФНГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ, НАДНГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НА-

ДИЦДГ и НАДФИЦДГ) и глутатионредуктазы (ГР). Показатели активности ферментов рассчитывались в мкЕД/10⁴ клеток. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го процентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий оценивали по критерию Манна — Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Проводимое исследование, согласно Хельсинкской декларации, осуществлялось при подписании информированных согласий родителями, было одобрено этическим комитетом НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у детей с ДРБТ и при их ассоциации с лямблиозом установлено, что только у детей с ДРБТ относительно контрольных значений отмечается снижение активности НАДФГДГ (рис. 1а). В обеих группах больных статистически достоверно снижены уровни активности Г6ФДГ (рис. 1б), НАДФИЦДГ (рис. 1в).

На рис. 2 представлены уровни активности НАД-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови. Обнаружено статистически достоверное снижение активности ГЗФДГ (рис. 2а), ЛДГ (рис. 2б), МДГ (рис. 2в), НАДИЦДГ (рис. 2г) в обеих группах больных независимо от наличия лямблиоза. Уровень активность НАДН-ЛДГ в лимфоцитах крови относительно контроля статистически достоверно снижен только у больных с ДРБТ (рис. 2д).

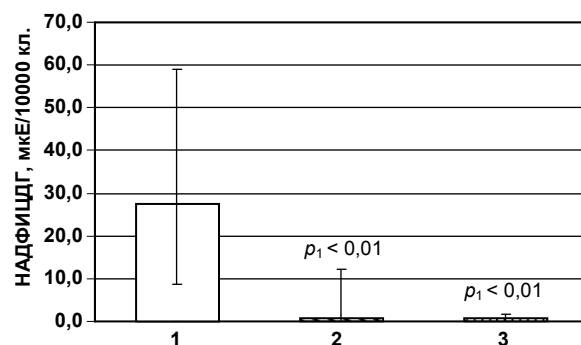
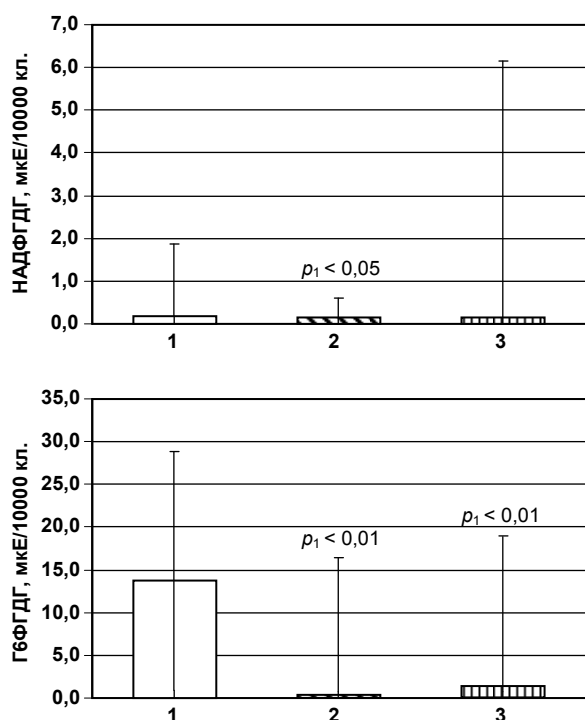


Рис. 1. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у детей с ДРБТ в зависимости от наличия лямблий: 1 – контроль; 2 – дети с ДРБТ; 3 – дети с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом.

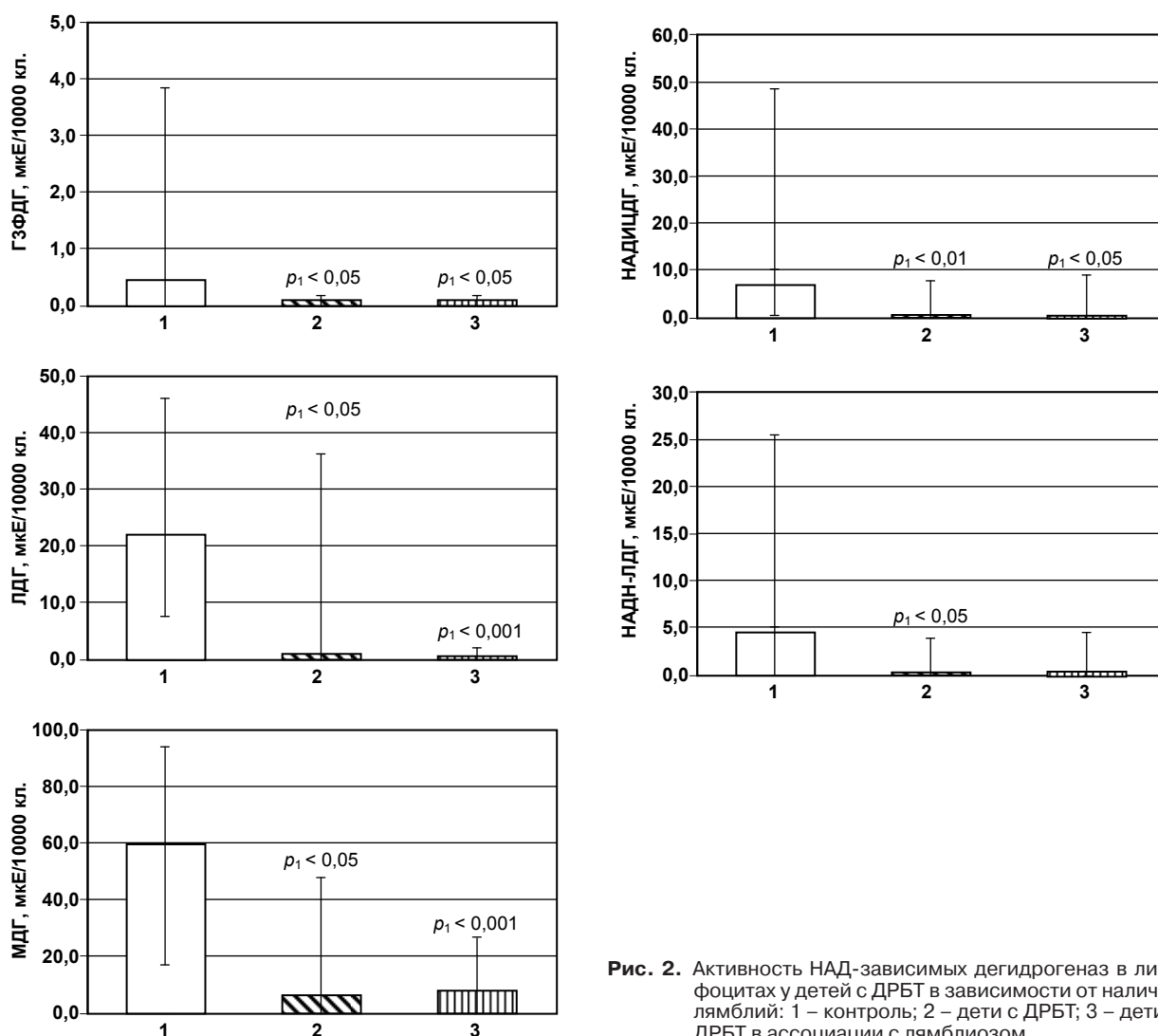


Рис. 2. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах у детей с ДРБТ в зависимости от наличия лямблий: 1 – контроль; 2 – дети с ДРБТ; 3 – дети с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом.

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции на разных метаболических путях клетки, которые в целом обеспечивают ее физиологические и функциональные потребности. ГЗФДГ является ключевым и инициализирующим ферментом пентозофосфатного цикла, продукты которого определяют широкий спектр реакций макромолекулярного синтеза [2, 8]. Следовательно, снижение активности данного фермента в лимфоцитах крови больных ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом определяет ингибирование рибозо-5-фосфат- и НАДФН-зависимых пластических процессов. ГЗФДГ обеспечивает перенос продуктов катаболизма липидов на окислительно-восстановительные реакции гликолиза [2, 7]. Соответственно, снижение активности ГЗФДГ характеризует понижение уровня субстратного потока на окислительно-восстановительной стадии гликолиза.

Состояние цитоплазматического компартмента лимфоцитов у детей больных ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом также характеризуется снижением активности аэробной реакции ЛДГ. При этом активность анаэробной реакции ЛДГ

снижена только при ДРБТ. Подобное состояние активности фермента позволяет сделать следующее заключение. В лимфоцитах крови детей с ДРБТ снижена интенсивность гликолиза и уровень окисления лактата до пирувата с последующим переносом последнего на реакции цикла трикарбоновых кислот. В то же время при ДРБТ в ассоциации с лямблиозом в лимфоцитах крови активность терминальных реакций гликолиза соответствует уровню нормы.

Цикл трикарбоновых кислот является центральным метаболическим процессом, который объединяет углеводный, липидный и белковый обмены в клетках [9, 10]. Уровни активности исследуемых нами ферментов цикла трикарбоновых кислот — МДГ и НАДИЦДГ — у детей с ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом снижены. Следовательно, интенсивность НАД-зависимого субстратного потока по циклу Кребса в лимфоцитах больных детей снижена. При этом необходимо отметить, что активность НАДФИЦДГ и НАДФГДГ при ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом также снижены. Данные ферменты определяются как

вспомогательные, определяющие возможность поддержки субстратного потока по лимонному циклу с помощью НАДФ-зависимых реакций [2]. Соответственно, можно заключить, что интенсивность метаболических процессов, зависящих от состояния субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, в лимфоцитах детей с ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом снижена. В первую очередь это процесс аэробного дыхания, от состояния которого во многом зависит реактивность лимфоцитов [11]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у детей с ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом позволило обнаружить значительные изменения в системе внутриклеточного метаболизма. У детей с ДРБТ в лимфоцитах крови снижены уровни субстратного потока по терминальным реакциям гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, что определяет ингибирование, соответственно, анаэробного и аэробного дыхания клеток. У детей с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом установлено, что в лимфоцитах крови при сохранении интенсивности терминальных реакций анаэробного гликолиза на уровне нормы снижается активность ферментов, определяющих состояние аэробного дыхания. Независимо от наличия или отсутствия лямблиоза у детей с ДРБТ снижена активность пентозофосфатного цикла, что характеризует ингибирование соответствующих реакций макромолекулярного синтеза. Подобное состояние метаболизма лимфоцитов у детей с ДРБТ и ДРБТ в ассоциации с лямблиозом, безусловно, будет отрицательно влиять на уровень реактивности клеток иммунной системы и тех компенсаторных и восстановительных процессов, которые связаны с функционально-регуляторным влиянием системы иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.А., Щербаков П.Л. Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии // Экспери-

ментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2008. — № 1. — С. 102—106.

2. Берёзов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.

3. Запруднов А.М., Харитонов Л.А. Актуальные аспекты заболеваний билиарного тракта в детском возрасте // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2010. — № 1. — С. 3—7.

4. Лямблиоз: Учебное пособие / Т.И. Авдюхина, Т.Н. Константинова, Т.В. Кучеря [и др.]. — М.: РМАПО, 2003. — С. 34.

5. Савченко А.А., Сунцова Л.И. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биологическим методом // Лабораторное дело. — 1989. — № 11. — С. 23—25.

6. Урсова Н.И. Дисфункциональные расстройства билиарного тракта у детей: клинические и фармакологические аспекты // Российский медицинский журнал. — 2003. — № 6. — С. 48—51.

7. Ikemoto A. Glycolysis and glutamate accumulation into synaptic vesicles. Role of glyceraldehyde phosphate dehydrogenase and 3-phosphoglycerate kinase // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278, N 8. — P. 5929—5940.

8. Increase in glucose-6-phosphate dehydrogenase in adipocytes stimulates oxidative stress and inflammatory signals / I. Park, S.C. Choe, A.H. Choi [et al.] // Diabetes. — 2006. — Vol. 55. — P. 2939—2949.

9. Metabolomic analyses reveal profound differences in glycolytic and tricarboxylic acid cycle metabolism in glucose-responsive and -unresponsive clonal β -cell lines / P. Spégel, S. Malmgren, V.V. Sharoyko [et al.] // Biochem. J. — 2011. — Vol. 435, N 1. — P. 277—284.

10. Tricarboxylic acid cycle intermediate pool size: functional importance for oxidative metabolism in exercising human skeletal muscle / J.L. Bowtell, S. Marwood, M. Bruce [et al.] // Sports Med. — 2007. — Vol. 37, N 12. — P. 1071—1088.

11. Unal M., Erdem S., Deniz G. The effects of chronic aerobic and anaerobic exercises on lymphocyte subgroups // Acta Physiol. Hung. — 2005. — Vol. 92, N 2. — P. 163—171.

Сведения об авторах

Муравьева Наталья Георгиевна — аспирант Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера СО РАМН (660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г; тел.: 8 (391) 212-52-63; e-mail: nataljamurawiewa@yandex.ru)

Савченко Андрей Анатольевич — доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера СО РАМН (660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г; тел.: 8 (391) 212-52-63; e-mail: aasavchenko@yandex.ru)

Манчук Валерий Тимофеевич — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, директор Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера СО РАМН (660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г; тел.: 8 (391) 228-06-83; e-mail: imprn@imprn.ru)