

УДК [616.36-002.12:578.891]-053.2-07:616.36-092

Параметры липидного спектра в клетках печени и лимфоцитах периферической крови у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В

В.Г. Булыгин

(НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск)

Lipid spectrum in liver cells and peripheral blood lymphocytes at children with chronic hepatitis B

V.G. Bulygin

Цель исследования. Изучение показателей липидного состава клеток печени и лимфоцитов крови у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В, и определение зависимости этих параметров от стадии хронизации заболевания.

Материал и методы. Обследованы 25 детей 12–15 лет, больных хроническим вирусным гепатитом В: 14 – со 2-й стадией хронизации процесса и 11 – с 3-й стадией. В ткани печени, полученной при прицельной биопсии, и выделенных из венозной крови лимфоцитах определялись показатели липидного состава методом тонкослойной хроматографии на силуфол с экстракцией из клеток липидных фракций.

Результаты. Изменения метаболизма в ткани печени детей зависят от стадии хронизации процесса, причем при 3-й стадии функциональное поражение клеток более глубокое. Метаболизм лимфоцитов также зависит от тяжести процесса, при этом 3-я стадия характеризуется более выраженной функциональной депрессией лимфоцитов.

Выводы. Интенсивность реакций метаболизма в клетках печени и лимфоцитах у детей 12–15 лет при хроническом вирусном гепатите В зависит от стадии хронизации инфекционного процесса и при 3-й его стадии отмечаются более глубокие, чем при 2-й, изменения изучаемых параметров. Характер соотношения липидных показателей клеток печени

Aim of investigation. To study parameters of lipid composition of liver cells and peripheral blood lymphocytes at children with chronic viral hepatitis B, as well as the relation of these parameters to the stage of disease chronization.

Material and methods. Overall 25 children aged 12 to 15 years with chronic hepatitis B were investigated: 14 – had the 2nd stage of hepatitis chronization and 11 – the 3rd stage. Lipid composition parameters were determined by thin-layer chromatography in Silufol with extraction of lipid fractions from cells of liver tissue obtained at guided biopsy, and lymphocytes extracted from venous blood.

Results. Metabolic changes in liver tissue of children depend on the stage of chronization of disease, at the 3rd stage functional lesions of cells are more profound. Metabolism of lymphocytes depends on disease severity as well, thus the 3rd stage is characterized by more severe functional depression of lymphocytes.

Conclusions. Intensity of metabolic reactions in liver cells and lymphocytes at 12–15 year old children with chronic hepatitis B depends on the stage of chronization of infectious process and at the 3rd stage more profound changes of investigated parameters were revealed, than at the second. Interrelation pattern of lipid parameters of liver cells and lymphocytes indicate, that the latter mirror specificity and trend of metabolic changes in liver tissue.

Булыгин Вадим Геннадьевич — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы цитологии лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН. Контактная информация для переписки: bulyginvadim@mail.ru, impn@impn.ru

и лимфоцитов позволяет утверждать, что последние отражают специфику и направленность изменений метаболических процессов в ткани печени.

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

Key words: children, chronic hepatitis B, stages of chronization, the liver, lymphocytes, lipids, metabolism.

Хронический вирусный гепатит В в настоящее время является серьезной медицинской и социальной проблемой. Это убедительно подтверждается его широкой распространенностью, все более частой регистрацией среди лиц молодого возраста, значительной ролью в формировании цирроза и первичного рака печени [1].

Важность изучения и необходимость достаточно полной регистрации хронического гепатита В определяются во многом тем, что он является основным источником острой инфекции: заражение острым гепатитом В в 94–96% происходит от лиц с хронической формой заболевания и только в 4–6% — от больных с острой формой. Кроме того, большую часть летальных исходов при вирусном гепатите В в последние годы регистрируют именно при хроническом, а не остром гепатите [7].

В России с 1999 по 2006 г., по данным официальной статистики [7], было зарегистрировано 517 199 больных хроническими вирусными гепатитами, из них у 162 676 выявлен хронический гепатит В (31,5%). Среди заболевших на долю детей до 14 лет приходилось от 6,5% в 1999 г. до 2,1% в 2006 г., причем $\frac{3}{4}$ из них были старше 6 лет (74,4% в 2000 г. и 76,5% в 2006 г.).

Экономический ущерб от всех вирусных гепатитов в Российской Федерации ежегодно превышает 5 млрд руб., что в структуре суммарного ущерба от наиболее распространенных инфекционных болезней составляет 63%. При этом экономические потери от заболеваемости хроническим гепатитом В исчисляются в 0,6 млрд руб.

Предполагается, что с учетом скрытых форм сегодня в стране живут от 3 до 5 млн больных хроническим гепатитом В, поэтому можно обоснованно говорить об эпидемии данного заболевания в России.

Исследования протекающих в организме внутриклеточных процессов при хроническом гепатите В, позволяющие усовершенствовать применяемые методы лечения, сделать их более обоснованными с точки зрения патогенеза и тем самым облегчить течение и отдалить неблагоприятные исходы заболевания, на сегодняшний день являются приоритетными.

Доказано, что в патогенезе хронического гепатита В важная роль принадлежит иммунной системе, ее способности к распознаванию возбудителя и дальнейшему формированию полноценного иммунного ответа, завершающегося инак-

тивацией и элиминацией микробного агента [6]. Физиологической единицей, в первую очередь контактирующей с микроорганизмом, является иммунокомпетентная клетка, функциональное состояние которой и обуславливает адекватность реагирования. Проявление в полном объеме функциональных возможностей лимфоцита, как и любой другой клетки, в значительной степени определяется его внутриклеточным метаболизмом, обеспечиваемым определенным уровнем липидного спектра [2].

Несмотря на многочисленные исследования, проведенные при хроническом вирусном гепатите В, и на достигнутые успехи в данной области, многие вопросы еще не нашли своего окончательного решения. Одним из них является изучение особенностей метаболических изменений в детском организме при этом заболевании, зависящих от стадии хронизации последнего. Использование липидных параметров, определяемых в ткани печени при разных стадиях хронизации гепатита В, и характер их соотношения с аналогичными показателями лимфоцитов при рассматриваемой патологии окажет, на наш взгляд, существенную помощь в оценке изменений метаболизма в печеночной ткани, так как известно, что внутриклеточный обмен в лимфоцитах способен отражать указанные процессы целостного организма [3].

В доступной литературе практически нет сведений о результатах исследований характера метаболических изменений в клетках печени и лимфоцитах периферической крови детей, полученных с применением показателей липидного состава клеток в зависимости от стадии хронизации гепатита В.

В связи с изложенным целью нашей работы явилось изучение показателей липидного состава клеток печени и лимфоцитов крови у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В, и определение зависимости этих параметров от стадии хронизации заболевания.

Материал и методы исследования

Обследованы 25 детей в возрасте от 12 до 15 лет с диагнозом «хронический вирусный гепатит В», который устанавливался в условиях специализированного стационара с помощью набора стандартных клинико-биохимических и иммуноферментных методов и подтверждался

Таблица 1
Содержание липидов (%) в клетках печени
детей, больных хроническим вирусным
гепатитом В, $M \pm m$

Показатель	2-я стадия хронизации $n=10$	3-я стадия хронизации $n=10$
ФЛ	16,26±1,99	12,76±2,46
ХОЛ	19,49±2,47	12,75±1,76 $p<0,05$
СЖК	8,11±0,93	6,00±0,58 $p<0,1$
ТАГ	27,61±3,44	36,45±4,13
ЭХ	28,58±2,68	32,67±0,40
ХОЛ/ФЛ	1,20±0,01	1,05±0,04 $p<0,01$
СЖК/ТАГ	0,34±0,06	0,17±0,01 $p<0,05$
ХОЛ + ЭХ	48,07±2,57	45,42±1,08

Таблица 2
Содержание липидов (%) в лимфоцитах детей,
больных хроническим вирусным гепатитом В,
 $M \pm m$

Показатель	2-я стадия хронизации $n=14$	3-я стадия хронизации $n=11$
ФЛ	21,82±1,79	22,18±2,96
ХОЛ	27,26±1,05	20,99±2,35 $p<0,05$
СЖК	5,93±0,80	7,26±1,10
ТАГ	8,85±1,81	12,77±1,69
ЭХ	30,54±1,92	38,15±2,48 $p<0,05$
ХОЛ/ФЛ	1,28±0,11	0,99±0,16 $p<0,1$
СЖК/ТАГ	0,85±0,09	0,72±0,17
ХОЛ + ЭХ	57,80±1,48	57,76±2,54

морфологически при пункционной биопсии печени (под контролем УЗИ) с учетом гистологического индекса степени активности, а также гистологического индекса стадии хронизации по полуколичественной системе баллов В.В. Серова [5]. Из общего числа обследованных у 14 выявлена 2-я стадия хронизации процесса (слабая или умеренная степень активности заболевания с умеренно выраженными фиброзными изменениями в печени), у 11 — 3-я стадия (слабая или умеренная степень активности с тяжелым фиброзом).

Биопсийный материал использовался и для определения в ткани печени показателей липидного состава клеток. Параметры липидного спектра — фосфолипиды (ФЛ), холестерин (ХОЛ), свободные жирные кислоты (СЖК), триацилглицериды (ТАГ) и эфиры холестерина (ЭХ)

исследовались методом тонкослойной хроматографии на силуфол с экстракцией из клеток печени липидных фракций по J. Folch и соавт. [9].

Аналогичным образом перечисленные показатели были изучены и в лимфоцитах, выделенных из венозной крови этих же больных на градиенте плотности (1,077 г/мл) фиколл-верографина [8].

Полученные в результате исследований данные были обработаны методами статистического анализа, используемыми в биологии и медицине с применением пакета прикладных программ Statistica [4]. В табл. 1 и 2 представлены среднegrupповые показатели (M) и ошибка средней (m). Оценка достоверности различий между показателями липидного состава в клетках печени и лимфоцитах крови при разных стадиях хронизации вирусного гепатита В проводилась с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследований выявлен ряд достоверных различий между показателями липидного состава клеток печени в группах, отличающихся друг от друга по стадии хронизации инфекционного процесса (см. табл. 1).

В частности, в клетках печени у больных с 3-й стадией хронизации количество холестерина определяется на меньшем уровне, чем при 2-й стадии — 12,75±1,76 и 19,49±2,47 соответственно ($p<0,05$). За счет снижения количества холестерина уменьшается и соотношение ХОЛ/ФЛ — 1,05±0,04 и 1,20±0,01 ($p<0,01$).

Кроме того, при 3-й стадии по сравнению со 2-й отмечается тенденция к уменьшению количества СЖК в клетках печени — 6,00±0,58 и 8,11±0,93 ($p<0,1$). В этой связи соотношение СЖК/ТАГ у больных с 3-й стадией хронизации заболевания также меньше — 0,17±0,01 и 0,34±0,06 ($p<0,05$).

Таким образом, установлено, что показатели липидного спектра клеток печени у детей с 3-й стадией хронизации вирусного гепатита В отличаются от аналогичных параметров при 2-й стадии хронизации этого заболевания:

- меньшим количеством холестерина, что приводит к лучшей проницаемости клеточной мембраны и снижению уровня защиты от перекисного окисления липидов;

- меньшим содержанием СЖК, что может способствовать поступлению глюкозы в клетки и гликогенолизу;

- снижением соотношения ХОЛ/ФЛ, что проявляется в более выраженном снижении функциональных способностей клеток печени;

- уменьшением соотношения СЖК/ТАГ, свидетельствующим об активации липогенеза и снижении расходования в клетках печени липидных энергетических субстратов.

При сравнении липидных параметров лимфоцитов в группах больных детей, различающихся по стадии хронизации гепатита, также выявлены достоверные различия между исследованными показателями (см. табл. 2).

Например, как и в клетках печени, количество холестерина в лимфоцитах при 3-й стадии хронизации заболевания меньше, чем в лимфоцитах больных со 2-й стадией — $20,99 \pm 2,35$ и $27,26 \pm 1,05$ соответственно ($p < 0,05$). Вместе с тем выявляется тенденция к снижению соотношения ХОЛ/ФЛ в этих клетках при самой тяжелой стадии по сравнению со 2-й — $0,99 \pm 0,16$ и $1,28 \pm 0,11$ ($p < 0,1$).

В то же время количество ЭХ при 3-й стадии хронизации процесса определяется на большем уровне, чем при 2-й стадии — $38,15 \pm 2,48$ и $30,54 \pm 1,92$ ($p < 0,05$).

Таким образом, параметры липидного спектра лимфоцитов у детей с 3-й стадией хронизации вирусного гепатита В отличаются от аналогичных показателей у детей со 2-й стадией хронизации данного заболевания:

- меньшим количеством холестерина, что может свидетельствовать о большей проницаемости клеточной мембраны лимфоцита и приводить к снижению защищенности клетки от перекисного окисления липидов;

- более высоким содержанием ЭХ, что указывает на более интенсивный внутриклеточный метаболизм холестерина, продуктом эстерификации которого и являются эфиры холестерина;

- меньшим соотношением ХОЛ/ФЛ, что проявляется в более выраженном снижении способности лимфоцитов к активации.

В заключение можно отметить, что выявленные нами особенности внутриклеточного обмена, характерные для клеток печени и лимфоцитов в

зависимости от стадии хронизации вирусного гепатита В у детей в возрасте 12–15 лет и проводимые в этом направлении дальнейшие исследования позволят, по нашему мнению, уточнить некоторые метаболические аспекты патогенеза хронического гепатита В, обусловленные тяжестью его течения (стадией хронизации), и определить новые подходы к диагностике, лечению и прогнозам течения указанного заболевания.

Выводы

1. Величина показателей липидного состава в печеночной ткани детей 12–15 лет, больных хроническим вирусным гепатитом В, зависит от стадии хронизации инфекционного процесса. Изменения липидных параметров, выявляемые при 3-й стадии хронизации заболевания, свидетельствуют о более глубоком, чем при 2-й стадии, функциональном поражении клеток печени.

2. В лимфоцитах крови изменения липидных показателей также зависят от тяжести заболевания (стадии хронизации) и более выражены при 3-й стадии.

3. Как в клетках печени, так и в выделенных из венозной крови лимфоцитах у обследованной группы детей наблюдаются одинаковые изменения ряда параметров липидного спектра, обусловленные стадией хронизации заболевания. Характер соотношения показателей липидного состава в клетках печени с аналогичными параметрами в лимфоцитах крови позволяет утверждать, что липидные показатели лимфоцитов отражают специфику и направленность изменений метаболических процессов, происходящих в ткани печени детей при хроническом вирусном гепатите В.

Список литературы

1. Арямкина О.Л. Хроническая HBV- и HCV-инфекция и рак печени: клинко-эпидемиологические и дифференциально-диагностические параллели // Эпидемиол. инфекц. болезни. — 2006. — № 2. — С. 36–39.
2. Булыгин Г.В., Камзалакова Н.И., Андрейчиков А.В. Метаболические основы регуляции иммунного ответа. — Новосибирск: СО РАМН, 1999. — 346 с.
3. Нарциссов Р.П., Степанова Е.И. Проблемы прогнозирования здоровья детей // Медицина и здравоохранение / Серия «Охрана материнства и детства»: обзорная информация. — М., 1987. — 36 с.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. — М.: Медиасфера, 2002. — 312 с.
5. Серов В.В., Севергина Л.О. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С // Арх. патол. — 1996. — № 4. — С. 61–64.
6. Тихонова Е.П., Булыгин Г.В. Метаболические основы иммунореактивности при парентеральных гепатитах В и С. — Новосибирск: Наука, 2003. — 148 с.
7. Шахгильдян И.В., Ясинский А.А., Михайлов М.И. и др. Хронические вирусные гепатиты в Российской Федерации // Клинико-эпидемиологические и этноэкологические проблемы заболеваний органов пищеварения (Материалы Восьмой Восточно-Сибирской гастроэнтерологической конференции с международным участием и Красноярской краевой гастроэнтерологической конференции 17–18 апреля 2008 г.). — Красноярск, 2008. — С. 246–253.
8. Boyum A. Separation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes // Tissue Antigens. — 1974. — Vol. 4. — P. 250–260.
9. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. — 1957. — Vol. 226, N 1. — P. 497–509.