

УДК 616.36-002-053.2

**ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ И ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ
У ДЕТЕЙ ПРИ РАЗНЫХ СТАДИЯХ ХРОНИЗАЦИИ ГЕПАТИТА С****Булыгин В.Г.***ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, Красноярск, e-mail: impn@impn.ru*

В клетках ткани печени, полученной при прицельной биопсии, и в лимфоцитах, выделенных из венозной крови, методом тонкослойной хроматографии на силуфол с экстракцией из клеток липидных фракций изучены показатели липидного состава у 26 детей в возрасте 12-16 лет, больных хроническим вирусным гепатитом С (по 13 человек со 2-й и 3-й стадиями хронизации процесса). В результате проведенных исследований установлено, что при хроническом вирусном гепатите С у детей интенсивность реакций метаболизма, определяемая по показателям липидного спектра клеток, в гепатоцитах и лимфоцитах зависит от стадии хронизации инфекционного процесса и при 3-й его стадии отмечаются более глубокие, чем при 2-й, поражения клеток печени и лимфоцитов.

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

**LIPID PROFILE IN LIVER CELLS AND BLOOD LYMPHOCYTES CHILDREN
AT VARIOUS STAGES CHRONIC HEPATITIS C****Buligin V.G.***Federal State Budgetary Institution Research Institute of Medical Problems of the North Siberian Office of the Russian Academy of Medical Science, Krasnoyarsk, e-mail: impn@impn.ru*

The cells of liver tissue biopsies obtained by sighting, and lymphocytes isolated from venous blood by flash chromatography with silufol extraction of lipid fractions from cells studied lipid composition of 26 children aged 12-16 years old, patients with chronic hepatitis C (13 people with the 2 and 3 stages of chronic process). The studies found that patients with chronic viral hepatitis C in children intensity of metabolic reactions, defined in terms of lipid cells, hepatocytes and lymphocytes depends on the stage of chronic infection and in the third stage of his celebrated deeper than the 2, lesions of the liver cells and lymphocytes.

Keywords: children, chronic hepatitis C, chronic stage, liver, lymphocytes, lipids, metabolism

В нашей стране, как и во всем мире, эпидемиологическая ситуация по хроническому вирусному гепатиту С на сегодняшний день весьма неблагоприятна [8], что убедительно подтверждается его широкой распространенностью, все более частой регистрацией среди лиц молодого возраста, значительной ролью в формировании цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [1, 5]. Высокая заболеваемость, поражение не только взрослого трудоспособного населения, но и детского контингента, определяют актуальность данной проблемы и ее трансформацию из медицинской в медико-социальную.

На сегодняшний день приоритетными при хронических гепатитах являются исследования внутриклеточных процессов в организме [2], позволяющие усовершенствовать применяемые методы лечения, сделать их более обоснованными с точки зрения патогенеза и тем самым облегчить течение и отдалить неблагоприятные исходы этих заболеваний.

Известно, что в патогенезе хронического гепатита С важная роль принадлежит иммунной системе, ее способности к распознаванию возбудителя и дальнейшему формированию полноценного иммун-

ного ответа. Физиологической единицей, в первую очередь контактирующей с вирусом, является иммунокомпетентная клетка, функциональное состояние которой и обуславливает адекватность реагирования. Функциональные возможности лимфоцита, как и любой другой клетки организма, в значительной степени определяются ее внутриклеточным метаболизмом, обеспечиваемым, в числе прочего, определенным уровнем липидного спектра [7].

Несмотря на многочисленные исследования, проведенные при хроническом вирусном гепатите С, и на достигнутые успехи в данной области, многие вопросы этой болезни еще не нашли своего окончательного решения. Одним из них является изучение особенностей изменений процессов метаболизма в организме ребенка, зависящих от стадии хронизации указанного заболевания. Использование липидных параметров, определяемых в гепатоцитах и лимфоцитах при разных стадиях хронизации гепатита С, окажет, на наш взгляд, существенную помощь в получении более полной картины метаболических изменений, так как известно, что внутриклеточный обмен в лимфоцитах способен отражать указанные процессы целостного организма [3].

Цель исследования – изучение показателей липидного состава в клетках печени и лимфоцитах крови у детей, больных хроническим гепатитом С, и определение зависимости этих параметров от стадии хронизации заболевания.

Материалы и методы исследования

Обследовано 26 детей в возрасте от 12-и до 16-и лет с диагнозом «Хронический вирусный гепатит С», который устанавливался в условиях специализированного стационара с помощью набора стандартных клинико-биохимических и иммуноферментных методов исследования и подтверждался морфологически при пункционной биопсии печени (под контролем УЗИ) с учетом гистологического индекса степени активности (ГИСА), а также гистологического индекса стадии хронизации (ГИСХ) – по В.В. Серову [6]. При этом у 13 человек определена 2-я стадия хронизации процесса (слабая или умеренная степень активности заболевания с умеренно выраженными фиброзными изменениями в печени) и еще у 13 – 3-я стадия хронизации (слабая или умеренная степень активности с тяжелым фиброзом в печени).

Материал, полученный при биопсиях, 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 et al. [10].

Аналогичным образом перечисленные выше показатели были изучены и в лимфоцитах, выделенных из венозной крови этих же больных на градиенте плотности (1,077 г/мл) фиколл-верографина [9].

Полученные в результате исследований данные были обработаны методами статистического анализа, используемыми в биологии и медицине с применением пакета прикладных программ Statistica [4]. В таблицах представлены среднегрупповые показатели (М) и ошибка средней (m). Оценка достоверности различий проводилась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

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

Таблица 1
Содержание липидов (%) в клетках печени у детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита С (М±m)

| Показатели | 2-я стадия хронизации, n=13 | 3-я стадия хронизации, n=13 |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1 | 2 |
| ФЛ | 11,96±0,61 | 11,63±0,81 |
| ХОЛ | 13,92±0,99 | 17,39±1,31 p1<0,05 |
| СЖК | 16,03±1,23 | 23,01±1,15 p1<0,001 |
| ТАГ | 18,30±0,91 | 14,93±0,84 p1<0,05 |
| ЭХ | 40,06±0,64 | 33,05±2,12 p1<0,01 |
| ХОЛ/ФЛ | 1,19±0,06 | 1,53±0,13 p1<0,05 |
| СЖК/ТАГ | 0,91±0,10 | 1,56±0,10 p1<0,001 |

Так, например, в клетках печени у больных с 3-й стадией хронизации инфекционного процесса количество ХОЛ определяется на большем уровне, чем в клетках детей со 2-й стадией: 17,39±1,31 и 13,92±0,99, соответственно, p<0,05. За счет повышения количества холестерина при 3-й стадии увеличивается и соотношение ХОЛ/ФЛ, по сравнению с этим же показателем, определя-

емым при 2-й стадии: 1,53±0,13 и 1,19±0,06, p<0,05. Вместе с тем, содержание ЭХ при 3-й стадии определяется ниже, чем при 2-й: 33,05±2,12 и 40,06±0,64, p<0,01.

Кроме того, при 3-й стадии увеличивается количество СЖК в клетках печени по сравнению со 2-й (23,01±1,15 и 16,03±1,23, p<0,001), а содержание ТАГ, в свою очередь, снижается (14,93±0,84 и 18,30±0,91,

$p < 0,05$). В связи с этим, соотношение СЖК/ТАГ у больных с 3-й стадией больше, чем при 2-й: $1,56 \pm 0,10$ и $0,91 \pm 0,10$, $p < 0,001$.

Таким образом, в результате наших исследований установлено, что показатели липидного спектра клеток печени у детей с 3-й стадией хронизации вирусного гепатита С отличаются от аналогичных параметров у детей со 2-й стадией хронизации этого заболевания по следующим пунктам:

– более высоким количеством холестерина, и, как следствие, повышенным соотношением ХОЛ/ФЛ, что определяет увеличение микровязкости и снижение проницаемости клеточных мембран (следовательно, и лучшую защиту от перекисного окисления липидов);

– меньшим содержанием эфиров холестерина, что косвенно подтверждает активацию синтеза самого холестерина;

– повышенным содержанием свободных жирных кислот, сниженным количеством триацилглицеридов и увеличенным, в связи с этим, соотношением СЖК/ТАГ, что свидетельствует о преимущественной направленности липидного обмена в сторону липолиза.

При сравнении липидных параметров лимфоцитов в группах больных детей, отличающихся друг от друга по стадии хронизации гепатита С, также выявлены достоверные различия между исследованными показателями (табл. 2).

Таблица 2

Содержание липидов (%) в лимфоцитах крови у детей при разных стадиях хронизации вирусного гепатита С ($M \pm m$)

| Показатели | 2-я стадия хронизации, n=13 | 3-я стадия хронизации, n=13 |
|------------|-----------------------------|----------------------------------|
| | 1 | 2 |
| ФЛ | $17,26 \pm 0,60$ | $31,49 \pm 1,33$ $p1 < 0,001$ |
| ХОЛ | $22,86 \pm 2,39$ | $20,35 \pm 2,40$ |
| СЖК | $11,36 \pm 0,40$ | $8,85 \pm 0,78$ $p1 < 0,01$ |
| ТАГ | $9,30 \pm 0,47$ | $6,78 \pm 0,43$ $p1 < 0,001$ |
| ЭХ | $40,20 \pm 1,51$ | $31,63 \pm 1,20$ $p1 < 0,001$ |
| ХОЛ/ФЛ | $1,44 \pm 0,22$ | $0,68 \pm 0,09$ $p1 < 0,01$ |
| СЖК/ТАГ | $1,15 \pm 0,02$ | $1,25 \pm 0,10$ |

Например, количество ФЛ в лимфоцитах детей с 3-й стадией хронизации заболевания больше, чем в лимфоцитах больных со 2-й стадией: $31,49 \pm 1,33$ и $17,26 \pm 0,60$, $p < 0,001$. В соответствии с этим, соотношение ХОЛ/ФЛ в этих клетках при 3-й стадии меньше, по сравнению со 2-й (количество ХОЛ достоверно меньше при 3-й стадии): $0,68 \pm 0,09$ и $1,44 \pm 0,22$, $p < 0,01$.

В то же время, содержание СЖК и ТАГ при 3-й стадии хронизации процесса определяется на меньших уровнях, чем при 2-й: СЖК – $8,85 \pm 0,78$ и $11,36 \pm 0,40$, $p < 0,01$; ТАГ – $6,78 \pm 0,43$ и $9,30 \pm 0,47$, $p < 0,001$.

В свою очередь, количество ЭХ при 3-й стадии меньше, чем при 2-й: $31,63 \pm 1,20$ и $40,20 \pm 1,51$, $p < 0,001$.

Таким образом, в результате наших исследований установлено, что отличия параметров липидного спектра лимфоцитов крови детей с 3-й стадией хронизации ви-

русного гепатита С от аналогичных показателей детей со 2-й стадией хронизации данного заболевания заключаются в следующем:

– повышенном содержании фосфолипидов и меньшем соотношении ХОЛ/ФЛ, что приводит к снижению микровязкости и лучшей проницаемости клеточных мембран лимфоцитов и определяет снижение уровня защиты этих клеток от перекисного окисления липидов;

– меньшем количестве эфиров холестерина, что может указывать на менее интенсивный внутриклеточный метаболизм самого холестерина (содержание ХОЛ при 3-й стадии достоверно меньше, чем при 2-й), продуктом эстерификации которого и являются ЭХ;

– менее высоком содержании свободных жирных кислот и триацилглицеридов, что может свидетельствовать о менее активном

жирнокислотном обмене с одновременным его сдвигом в сторону липогенеза.

В заключение можно отметить, что установленные в результате наших исследований особенности внутриклеточного обмена, характерные для клеток печени и лимфоцитов, в зависимости от стадии хронизации гепатита С у детей 12-16-и лет и проводимые в этом направлении дальнейшие исследования позволят, по-нашему мнению, уточнить некоторые метаболические аспекты патогенеза хронического вирусного гепатита С, обусловленные тяжестью его течения (стадией хронизации), определить новые подходы в лечении и прогнозах течения указанного заболевания в детском возрасте.

Выводы

1. Величина показателей липидного состава в клетках печени детей в возрасте 12-16-и лет, больных хроническим вирусным гепатитом С, зависит от стадии хронизации инфекционного процесса. Изменения липидных параметров, выявляемые при 3-й стадии хронизации, свидетельствуют о более глубоком, чем при 2-й, функциональном поражении клеток печени.

2. В лимфоцитах крови у детей 12-16-и лет при хроническом вирусном гепатите С изменения липидных показателей также зависят от его стадии хронизации и предполагают наличие более выраженных метаболических нарушений в этих клетках при 3-й стадии, по сравнению со 2-й.

Список литературы

1. Арямкина, О.Л. Хроническая HBV- и HCV-инфекция и рак печени: клинико-эпидемиологические и дифференциально-диагностические параллели / О.Л. Арямкина // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2006. – №2. – С. 36–39.
2. Булыгин, В.Г. Параметры метаболизма в лимфоцитах крови у больных хроническим вирусным гепатитом В / В.Г. Булыгин, Е.П. Тихонова, Н.А. Аксенова, Г.В. Булыгин // Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – Т. 62, №2. – С. 33–36.
3. Нарциссов, Р.П. Проблемы прогнозирования здоровья детей. Медицина и здравоохранение (серия: охрана материнства и детства): обзорная информация. / Р.П. Нарциссов, Е.И. Степанова. – М., 1987. – 36 с.
4. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
5. Рейзис, А.Р. Современные проблемы вирусного гепатита С у детей и подростков / А.Р. Рейзис // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2003. – №5. – С. 23–26.
6. Серов, В.В. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С / В.В. Серов, Л.О. Севергина // Архив патологии. – 1996. – №4. – С. 61–64.
7. Тихонова, Е.П. Метаболические основы иммунореактивности при парентеральных гепатитах В и С / Е.П. Тихонова, Г.В. Булыгин. – Новосибирск: Наука, 2003. – 148 с.
8. Шахгильдян, И.В. Хронические вирусные гепатиты в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян, А.А. Ясинский, М.И. Михайлов и др. // Клинико-эпидемиологические и этно-экологические проблемы заболеваний органов пищеварения: материалы восьмой Восточно-Сибирской гастроэнтерологической конференции с международным участием и Красноярской краевой гастроэнтерологической конф., 17–18 апреля 2008 г. – Красноярск, 2008. – С. 246–253.
9. Boyum, A. Separation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes / A. Boyum // Tissue Antigens. – 1974. – Vol. 4. – P. 250–260.
10. Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. Sloane-Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, N1. – P. 497–509.