

ФОСФОЛИПИДЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА И ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

Макаров В.К.

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет»,
кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии

Цель исследования. Определить диагностические критерии цирротической стадии HBV инфекции по данным фосфолипидного спектра сыворотки крови.

Материалы и методы. Фосфолипидный спектр сыворотки крови был изучен у 70 больных хроническим вирусным гепатитом В (ХВГ В) и 20 – мелкоузловым циррозом печени.

Результаты. У больных в цирротической стадии наблюдалось достоверно более низкое содержание лизофосфатидилхолина, лизофосфатидилэтаноламина и фосфатидилэтанола по сравнению с больными ХВГ «В» злоупотребляющими и не злоупотребляющими алкоголем. Однако уровень относительного содержания фосфатидилхолина у них оказался выше, чем у больных контрольных групп.

Заключение. К диагностическим критериям цирротической стадии ХВГ «В» можно отнести уровень относительного содержания лизофосфатидилхолина и лизофосфатидилэтаноламина ниже 3% или их абсолютное содержание менее 7 мг%.

Близкие значения общих фосфолипидов у больных ХВГ «В», не злоупотреблявших алкоголем, и пациентов в цирротической стадии HBV инфекции могут служить подтверждением ведущей роли вирусной инфекции гепатита «В» в прогрессировании болезни от стадии ХВГ «В» до стадии цирроза печени.

Ключевые слова: *фосфолипиды, хронический гепатит, цирроз печени.*

DOI: 10.26456/vtchem21

Ранняя диагностика цирротической стадии гепатита «В» (HBV инфекции) очень важна, так как позволяет провести комплекс лечебных мероприятий, направленных как на борьбу с вирусом, так и на уменьшение степени прогрессирования фиброзных процессов в печени, результатом которых является продление жизни и трудоспособности больных.

Цирроз печени принято диагностировать при появлении признаков портальной гипертензии: метеоризма, асцита, увеличенной селезёнки и других, менее значимых, клинических признаков [1], а также по результатам биопсии и при диаметре воротной вены более 15 мм при ультразвуковом исследовании [2].

Трудность в диагностике начальных проявлений стадии цирроза при HBV инфекции в связи с малой информативностью результатов биопсий [3] побуждает к поиску новых способов диагностики с использованием нетрадиционных лабораторных методов исследования.

К лабораторным тестам подобного рода можно отнести исследование фосфолипидов (ФЛ) сыворотки крови. Фосфолипиды входят в состав мембран клеток печени, и соответственно всякое изменение содержания их на мембране приводит к изменению содержания их в крови. Отсюда при разрушении мембран гепатоцитов их составные компоненты насыщают кровь и изменяют нормальное соотношение фракций.

Данных об изменении соотношении фракций ФЛ сыворотки крови при цирротической стадии HBV инфекции в литературе найти не удалось.

Цель исследования заключалась в определении диагностических критериев цирротической стадии HBV инфекции по данным фосфолипидного спектра сыворотки крови.

Материалы и методы

Данные по фосфолипидному спектру крови получены от 70 больных хроническим вирусным гепатитом и 20 пациентов в цирротической стадии HBV инфекции (основная группа). Больные ХВГ «В» были разделены на злоупотреблявших (40 человек, контрольная группа 1) и не злоупотреблявших алкоголем (30 человек, контрольная группа 2). Злоупотреблявшими алкоголем считались лица, которые употребляли более 80 – 160 г в сутки чистого этанола, а частота потребления составляла не менее 3 раз в неделю. Применяли Международную классификацию, которая основана на этиологическом принципе, где предложено называть цирроз печени при хроническом вирусном гепатите В. Практически все больные HBV инфекцией в цирротической стадии ранее, за исключением последних 3 – 5 лет, злоупотребляли алкоголем.

Липиды выделяли по Фолчу [4] и фракционировали модифицированным методом [5] с определением процентного содержания минорных липидных компонентов сыворотки крови одновременно с основными липидными фракциями с применением метода денситометрии и современного высокоточного денситометра Shimadzu CS-9000 (Япония).

В связи с тем что задача исследования состояла в изучении соотношения липидных фракций у больных разных групп, мы не учитывали зависимость степени обугливания липидных фракций от особенностей их химического строения и молекулярной массы.

Изучено относительное и абсолютное содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) и следующих их фракций: лизофосфатидилсерина

(ЛФС), лизофосфатидилхолина (ЛФХ), лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ).

Все показатели пациентов проверялись на предмет выявления эмпирических функций их распределения и соответствие данных функций нормальной функции распределения (функция Гаусса). Для этой процедуры применялся критерий согласия Шапиро – Уилка, который применим при небольшом количестве измерений ($n < 50$). Сравнение групп проводилось двумя способами: для нормально распределённых показателей применялся Т-критерий Стьюдента, а в случае аномальности функций распределения – U-критерий Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов исследования фосфолипидного спектра сыворотки крови показал (табл. 1), что у больных в цирротической стадии HBV инфекции наблюдалось достоверно более низкое относительное содержание ЛФХ, ЛФЭ и ФЭ по сравнению с больными ХВГ «В», злоупотреблявшими и не злоупотреблявшими алкоголем.

Таблица 1

Характеристика фосфолипидного состава сыворотки крови у больных хроническим вирусным гепатитом «В» и в цирротической стадии HBV инфекции

Фосфо- липиды	Показатели липидов ($M \pm m$) в отн. %			1	2
	ХВГ «В», злоупотребля вшие алкоголем ($n = 40$)	Больные в цирротичес- кой стадии ($n = 20$)	Больные ХВГ «В» ($n = 30$)		
ЛФС	7,1±0,9	6,4±0,9	4,0±0,7	0,05	0,05
ЛФХ	4,0±0,4	2,6±0,1	4,8±0,2	0,02	0,001
ЛФЭ	4,3±0,3	2,9±0,2	4,9±0,2	0,05	0,001
СМ	19,7±0,8	18,1±0,7	18,5±0,5	0,05	0,01
ФХ	46,5±1,2	55,6±1,8	49,7±1,0	0,001	0,001
ФЭ	10,1±0,7	6,8±0,5	13,5±0,8	0,05	0,05

Примечание:

P_1 – достоверность различий показателей фосфолипидов у больных ХВГ «В», злоупотреблявших алкоголем, по отношению к пациентам в цирротической стадии HBV инфекции;

P_2 – достоверность различий показателей фосфолипидов у больных ХВГ «В» по отношению к пациентам в цирротической стадии HBV инфекции.

Однако уровень относительного содержания ФХ у пациентов в цирротической стадии HBV инфекции оказался выше, чем у больных контрольных групп ($P < 0,001$). Примечательно, что содержание ЛФХ, ЛФЭ и ФЭ в сыворотке крови у больных в цирротической стадии было почти в 1,5 – 2 раза ниже, чем у больных ХВГ «В».

Сравнение абсолютного уровня фракций фосфолипидов (табл. 2) у больных в цирротической стадии HBV инфекции и пациентов с ХВГ «В» показало, что у лиц основной группы наблюдалось более низкое содержание сывороточного ЛФХ, ЛФЭ и ФЭ по сравнению с контролем. Кроме того, у больных в цирротической стадии абсолютное содержание ЛФС было более низким, чем у больных ХВГ «В», злоупотреблявших алкоголем, и не отличалось от такового у больных ХВГ «В» без злоупотребления алкоголем в анамнезе. Наиболее высокие значения общих фосфолипидов наблюдались у больных ХВГ «В», злоупотреблявших алкоголем, по сравнению с больными основной и контрольной группы 2. Показатели ОФЛ у больных ХВГ «В», не злоупотреблявших алкоголем, и пациентов в цирротической стадии практически не различались ($P > 0,05$).

Таблица 2.

Характеристика фосфолипидного состава сыворотки крови у больных хроническим вирусным гепатитом «В» и пациентов в цирротической стадии HBV инфекции

Фосфо- липиды	Показатели липидов ($M \pm m$) в мг %			P_1	P_2
	ХВГ В, злоупотреб лявшие алкоголем (n – 40)	Больные ХВГ «В» в цирротичес- кой стадии (n – 20)	Больные ХВГ В (n – 30)		
ОФЛ	251,7±9,8	174,4±5,6	174,9±4,3	0,001	>0,05
ЛФС	17,8±2,2	11,1±1,5	8,0±1,2	0,05	0,05 >
ЛФХ	10,0±1,0	4,5±0,1	8,3±0,3	0,01	0,001 <

ЛФЭ	10,8±0,7	5,0±0,3	8,5±0,3	0,01	0,001	<
СМ	49,6±2,0	31,5±1,2	32,5±0,8	0,001	0,05	>
ФХ	117,0±3,0	96,9±3,1	86,9±1,7	0,001	0,01	<
ФЭ	25,4±1,7	11,8±0,8	23,6±1,3	0,001	0,001	<

Примечание:

P_1 - достоверность различий показателей фосфолипидов у больных ХВГ «В», злоупотреблявших алкоголем по отношению к пациентам в цирротической стадии HBV инфекции.

P_2 – достоверность различий показателей фосфолипидов у больных ХВГ «В» по отношению к пациентам с» в цирротической стадии HBV инфекции.

Известно, что фосфолипиды составляют матрицу всех биологических мембран. Это относится и к гепатоцитам, мембраны которых на 65% состоят из фосфолипидов. Функционирование внешних (клеточных) и внутренних (субклеточных) мембранных систем зависит от целостности их фосфолипидных структур. Все метаболические процессы в клетках печени происходят с участием этих мембранных систем. Фосфолипиды оказывают влияние на иммунные реакции на клеточном уровне [6].

Клеточные мембраны имеют типичное двухслойное строение – вязкий липидный двойной слой [1]. Внешний монослой плазматической мембраны включает только фосфатидилхолин и родственный ему сфингомиелин, а монослой, обращенный к цитоплазме, состоит, главным образом, из фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина, а также фосфатидилинозитола [8]. Отсюда более высокое значение относительного содержания ФХ в сыворотке крови у больных в цирротической стадии по сравнению с контрольными группами может быть связано с большей степенью деструкции наружного слоя мембран гепатоцитов, а более низкое содержание ФЭ связано с укреплением монослоя, обращенного к цитоплазме в качестве компенсаторной реакции.

Некоторые фосфолипиды могут быть чрезвычайно токсичны. К подобного рода фосфолипидам относятся лизофосфолипиды, которые образуются под действием фосфолипаз при ферментативном отщеплении от молекулы глицерофосфолипидов одной или двух жирных кислот. Они обладают повышенной растворимостью в водных фазах и оказывают мембранолитическое действие (гемолиз эритроцитов, цитолиз). При повреждении тканей происходит

накоплении в них лизофосфолипидов, которые образуют рыхлые мицеллярные структуры, что определяет их детергентное действие на мембраны: в присутствии ничтожных количеств лизофосфолипидов мембраны становятся утолщенными, гидратированными, а их проницаемость для различных веществ резко возрастает. Лизофосфолипиды блокируют аккумуляцию Са саркоплазматическим ретикулумом, вызывают разрыв мембран, участвуют в слипании клеток [8] и угнетают адгезию бактерий [10], т.е. действуют как иммуносупрессоры, участвуя в иммунном ответе. Накоплением ЛФХ и ЛФЭ на мембранах гепатоцитов, вероятно, можно объяснить значительно более низкий уровень данных фосфолипидов в сыворотке крови у больных в цирротической стадии HBV инфекции по сравнению с больными ХВГ «В» злоупотреблявшими и не злоупотреблявшими алкоголем.

Высокие показатели ОФЛ, которые наблюдались у больных ХВГ «В», злоупотреблявших алкоголем, обусловлены, вероятно, индуцированным алкоголем усилением липогенеза [11].

Выводы

Таким образом, к диагностическим критериям цирротической стадии HBV инфекции можно отнести уровень относительного содержания ЛФХ и ЛФЭ ниже 3% или их абсолютное содержание менее 7 мг% (Патент РФ на изобретение № 2171993).

В целях диагностики предпочтительнее использовать показатели относительного содержания уровня ЛФХ и ЛФЭ, так как их значения не зависят от уровня общих фосфолипидов, которые изменяются под влиянием алкоголя.

Близкие значения ОФЛ у больных ХВГ «В», не злоупотреблявших алкоголем, и пациентов в цирротической стадии HBV инфекции могут служить подтверждением ведущей роли вирусной инфекции гепатита «В» в прогрессировании болезни от стадии ХВГ «В» до стадии цирроза печени.

Список литературы

1. Дунаевский О.А. Вирусные гепатиты и дифференциальная диагностика заболеваний печени. 3-е изд. Тверь, 1993. Ч. 1. 76 с.
2. Рахманова А.Г., Яковлев А.А., Виноградова Е.Н., Демиденко Т.Я., Стуков Б.Н. Хронические вирусные гепатиты (вопросы классификации и регистрации) // Эпидемиология и инфекционные болезни. 1999. № 1. С. 39–42.
3. Цыбуляк С.Н., Крылев А.Н., Корданюк А.А. и др. Клиническое значение морфологического обследования носителей HB_sAg // Здоровоохранение. Кишинёв, 1989. №. 6. С. 8–10.

4. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. // J. biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
5. Макаров В.К. Фосфолипидный спектр сыворотки крови в диагностике разных стадий комбинированного вирусно-алкогольного поражения печени. // Биомед. химия. 2004. №. 50 (50). С. 498–501.
6. Кунц Э., Гундерман К.И., Шнайдер Э. “Эссенциальные фосфолипиды в гепатологии” (экспериментальный и клинический опыт): Лекция // Терапевт. арх. 1994. Т. 66, № 2. С. 66 – 72.
7. Бородин Е.А., Арчаков А.И., Лопухин Ю.М. Теоретическое обоснование использования ненасыщенных фосфолипидов для восстановления структуры и функций повреждённых биологических мембран // Вестн. Академ. Мед. наук СССР. 1985. № 3. С.84–90.
8. Бретчер М.С. Молекулы клеточных мембран. // В кн. Современные аспекты мембранной терапии печени.: мат. симп. «Эссенциальные фосфолипиды в лечении поражений печени». М. 1997. С. 3–4.
9. Вельтищев Ю.Э., Юрьева Э.А., Воздвиженская Н.С. Биологически активные метаболиты мембранных глицерофосфолипидов в норме и при патологии // Вопр. мед. химии. 1987. Вып. 2. Т. 33, № 2. С. 2–9.
10. Тананова Г.В., Кушнарева М.В., Светлов С.И. Влияние фосфолипидов на адгезивные свойства бактерий // Ж. М.Э.И. - 1992. - № 5-6. – С. 4-7.
11. Марри Р., Греннер Д., Мейерс П., Родуэлл В. Биохимия человека: пер. англ. М: Медицина, 1993. Т.1, разд. 2. С. 111 – 298.

References

1. Dunaevskiy O.A. Virusnyie gepatityi i differentsialnaya diagnostika zabolevaniy pecheni, chast 1, izdanie 3-e, Tver. 1993. 76 S (in Russian).
2. Rahmanova A.G., Yakovlev A.A., Vinogradova E.N., Demidenko T.Ya., Stukov B.N. Hronicheskie virusnyie gepatityi (voprosyi klassifikatsii i registratsii) // Epidemiologiya i infektsionnyie bolezni. 1999. № 1. S. 39–42 (in Russian).
3. Tsybuliyak S.N., Kryilev A.N., Kordanyuk A.A.i dr. Klinicheskoe znachenie morfologicheskogo obsledovaniya nositeley HBSAg // Zdravoohranenie. – KishinYov. 1989. № 6. S. 8–10 (in Russian).
4. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. // J. biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
5. Makarov V.K. Fosfolipidnyiy spektr syivorotki krovi v diagnostike raznyih stadiy kombinirovannogo virusno-alkogolnogo porazheniya pecheni. Biomed. himiya. 2004. № 50 (50). P. 498–501 (in Russian).
6. Kunts E., Gunderman K.I., Shnayder E. “Essentsialnyie fosfolipidy v gepatologii” (eksperimentalnyiy i klinicheskiiy opyt): Lektsiya // Terapevt. arh. 1994. T. 66, № 2. P. 66 – 72.
7. Borodin E.A., Archakov A.I., Lopuhin Yu.M. Teoreticheskoe obosnovanie ispolzovaniya nenasyischennyih fosfolipidov dlya vosstanovleniya strukturyi i

- funktsiy povrezhdYonnyih biologicheskikh membran // Vestn. Akadem. Med. nauk SSSR. 1985. № 3. P.84-90 (in Russian).
8. Bretcher M.S. Molekulyi kletochnyih membran. V kn.: Sovremennyye aspekty membrannoy terapii pecheni. Mat. simp. «Essentsialnyie fosfolipidy v lechenii porazheniy pecheni», M. 1997. P.3–4.
 9. Veltischev Yu.E., Yureva E.A., Vozdvizhenskaya N.S. Biologicheski aktivnyie metabolity membrannyih glitserofosfolipidov v norme i pri patologii // Vopr. med. himii. 1987. Vyip. 2, T. 33, № 2. P. 2–9 (in Russian).
 10. Tananova G.V., Kushnareva M.V., Svetlov S.I. Vliyanie fosfolipidov na adgezivnyie svoystva bakteriy // Zh. M.E.I. 1992. № 5–6. P. 4–7 (in Russian).
 11. Marri R., Grenner D., Meyers P., Roduell V. Biohimiya cheloveka: per. angl. M: Meditsina, 1993. T.1, razd. 2. P. 111 – 298.

BLOOD PHOSPHOLIPIDS IN DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF CHRONIC HEPATITIS AND LIVER CIRROSIS

V.K. Makarov

Tver State Medical university, chair of infectious diseases and epidemiology

The purpose of research. To detect of diagnostic criterion of cirrotic stage chronic virus гепатита «В» on the data of the blood phospholipid spectrum.

Materials and methods. The blood phospholipid spectrum for 70 patients with chronic virus гепатитом В (CVH B) and 20 - with liver cirrhosis was investigated .

Results. For the patients in cirrhotic stage authentically lower contents of lisophosphatidilholn, lisophosphotidiletanolamin and phosphatidiletanol were observed in comparison with the patients with CVH B abusing and not abusing with alcohol. However level of abundance phosphatidilpholin at them has appeared above, than for the patients of check groups.

Conclusion. To diagnostic criteria of HBV cirrotic stage the level of abundance lisophosphatidilholin and lisiphosphatidiletanolanin below than 3 % or their absolute contents less than 7 mg% is possible to refer.

The close values total phospholipids for the patients with CVH B not abusing with alcohol and patients in cirrotic stage HBV infection can be for confirmation of virus infection hepatitis B leading role in progressing from a CVH B up to liver cirrotic stage.

Key words: *phospholipids, chronic hepatitis, liver cirrhosis.*

Об авторе:

МАКАРОВ Виктор Константинович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет», E-mail: makarov.tver@mail.ru