### САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЬЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. АКАД. И. П. ПАВЛОВА

На правах рукописи

#### НИКОЛАЕНКО Светлана Леонидовна

**ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ В И С**

**14. 00. 10 - инфекционные болезни**

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук**

Работа выполнена в Санкт-Петербургском Государственном медицинском университете имени академика И.П. Павлова

## Научный руководитель

академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор Е.П. Шувалова

## Официальные оппоненты

доктор медицинских наук профессор Т.В. Сологуб

доктор медицинских наук С.Л. Мукомолов

Ведущее учреждение Научно-исследовательский институт детских инфекций

**Актуальность темы.** Вирусные гепатиты, несмотря на определенные успехи в изучении этиологии, патогенеза, клиники и терапии, остаются проблемой, далекой от своего решения (Дунаевский О.А., 1993. Подымова С Д, 1993, Учайкин В Ф и др, 1994; Соринсон С Н, 1996, Alberti A et al, 1991; Barbara J A, 1994)

Необходимость дальнейшего изучения различных сторон патогенеза вирусных гепатитов возникает вследствие разработки новых методов ис­следования и возможности верификации гепатитов, ранее расцениваемых. как "ни А. ни В" (Мукомолов С Л и др, 1992, Рахманова А Г и др, 1995, Хазанов А И , 1996; Krogsgaard К et al. 1990, Chang W Y et al, 1992 )

Наряду с моноинфекциями, в результате общих путей и механизмов заражения, а также строго типоспецифического характера иммунитета, в последнее время наблюдается увеличение частоты ко- и суперинфицирования несколькими вирусами с развитием микст-гепатитов В большей мере это относится к вирусным гепатитам с парентеральным механизмом заражения (Соболевская О Л . 1995. Румянцев О.Н. и др., 1996, Шувалова ЕП. Антонова Т.В. 1996, Zeidis Y.B. et al, 1992, Liaw G.-F., 1995, Goranova Q et all, 1996)

Одной из причин развития затяжного течения вирусного гепатита счи­тают неполноценность ответной реакции организма в связи с нарушением функционирования иммунной системы (Соринсон С Н. и др . 1992. Шамшура О Л , Фролов А. В. , 1994. Баширова Д К. 1996, Собчак Д. М., Деречинская Е Л, 1996, Popper Н., Paronetto F . 1984: Paterlim P et al. 1993, Manns M P,1996).

Большое значение в патогенезе различных заболеваний придается структурно-метаболическом; состоянию иммунокомпетентных клеток (ИКК), от которого зависит функционирование иммунной системы в целом (Ляшенко ЮИ, 1988, 1992, Paronetto F, 1986. Bianchi FB, 1992. Schirmacher P et al. 1993) и, как следствие, течение инфекционного про­цесса. Одной из возможных причин несостоятельности лимфоцитов может явиться усиление процессов свободнорадикального окисления в их мем­бранах и нарушение его регуляции (Афонина Г Б , Бордонос В Г, 1990, Пастушенков В Л и др, 1993, Матвейков Г П и др. 1994, Devi M A . Das N P , 1994, Cardier YE et al, 1995), а также изменение внутриклеточного метаболизма, приводящего к нарушению созревания, дифференцировки и функционирования ИКК (Робинсон М.В , 1986, 1994, Николаев А И и др , 1989. Габрилович Д И и др . 1991, Гольтяпин Д Б . 1995, Huang С M et al, 1988,LosaGA., 1989)

Вышеизложенное послужило основанием для выбора направления наших исследований

**Цель исследования:** Оценить патогенетическое значение функционально-метаболического состояния лимфоцитов и их мембран при вирусных гепатитах различной этиологии, разработать на этой основе дополнительные критерии оценки тяжести и прогнозирования течения заболевания.

**Задачи исследования:**

1. Изучить состояние процессов липопероксидации в мембранах лимфоцитов и в плазме крови по уровню малонового диальдегида в динамике вирусных гепатитов различной этиологии.

2. Изучить состояние антиоксидантной защиты в лимфоцитах по уров­ню активности ее основного фермента - супероксиддисмутазы и биосинте­тическую активность клеток при вирусных гепатитах.

3. Определить состояние внутриклеточного метаболизма лимфоцитов по изменению активности ведущих ферментов основных обменных циклов (СДГ, ЛДГ, альфа-ГФДГ, НАД- и НАДФ-оксидазы) при остром вирусном гепатите В (ОВГВ) и гепатите В+С.

4. Определить характер иммунологических сдвигов при ОВГВ по состоянию Т-, В-клеточного звена иммунитета и неспецифической резистентности.

5. Оценить клиническое и патогенетическое значение состояния лимфоцитов в периферической крови и разработать дополнительные критерии оценки тяжести и прогнозирования течения вирусных гепатитов.

**Основные положения, выносимые на защиту**. В работе обосновывается положение о закономерном усилении перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран лимфоцитов, соответствующее периоду и форме тяжести вирусных гепатитов. Изменение уровня малонового диальдегида (МДА) в лимфоцитах имеет количественные различия и разнонаправленный характер в динамике заболевания при гепатитах различной этиологии.

Обсуждается положение о том, что дополнительным фактором. влияющим на функционирование иммунокомпетентных клеток (ИКК) при вирусных гепатитах, является измененное внутриклеточное метаболическое состояние лимфоцитов, оцениваемое по активности ключевых ферментов основных обменных циклов и содержанию РНК. ДНК и ПДН,

Состояние процессов ПОЛ и метаболизм лимфоцитов имеют важное патогенетическое значение, что обосновывает значение их показателей для оценки тяжести и прогнозирования течения вирусных гепатитов.

**Научная новизна работы.** Впервые выявлены преимущественно однотипные изменения метаболических процессов и функционирования иммунокомпетентных клеток при ОВГВ и ВГВ+С.

Получены новые данные о зависимости интенсивности ПОЛ в мембра­нах лимфоцитов и активности СОД от этиологии гепатита. Так, при лег­кой форме ВГС уровень МДА лимфоцитов в разгар заболевания не повышался и был существенно ниже, чем при ОВГВ и ВГВ+С. Если при циклической форме ОВГВ наблюдалось компенсаторное усиление активности СОД к периоду реконвалесценции, то у больных гепатитом В+С показатель оставался стабильным на протяжении заболевания.

Интенсивность ПОЛ и активность СОД лимфоцитов соответствовали тяжести и периоду вирусного гепатита.

Впервые выявлено достоверное увеличение эндонуклеолиза хроматина лимфоцитов при ОВГВ и усиление биосинтетической активности клеток независимо от тяжести и периода заболевания.

**Практическая ценность работы.** Выявленные закономерности изме­нения показателей МДА, активности СОД лимфоцитов при вирусных гепатитах в зависимости от тяжести и периода заболевания, обосновывают их прогностическое значение, а также возможность использования их определения для оценки тяжести заболевания и полноты выздоровления.

**Апробация работы.** Основные положения работы доложены на заседании Санкт-Петербургского отделения Всероссийского научного общества инфекционистов (1997). представлены на 1. 2 и 3 Всероссийской неделе гастроэнтерологов(1995, 1996. 1997).

**По теме диссертации опубликовано** 5 работ.

**Пути реализации** работы. Результаты исследования внедрены в практику работы Научно-исследовательского института детских инфекций (г. Санкт-Петербург) и инфекционного отделения в/ч 22412 ЛенВО, а также в учебном процессе на кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 167 страницах машинописи, из них 132 страницы основного текста, содержит 23 таблицы и 12 рисунков, снабжена указателем литературы, включающим 182 отечественных и 139 иностранных источников.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Под наблюдением находились 166 больныхвирусными гепатитами: 137 мужчин и 29 женщин. Возраст 86,2% обследованных не превышал 30 лет. В результате серологической верификации ВГ у 99 больных установ­лен диагноз ОВГВ, у 11 - ВГС, 56 больных имели одновременно маркеры ОВГВ и антитела к HCV (ВГВ+С).

Оценка формы тяжести вирусных гепатитов проводилась по общепри­нятым критериям. Легкая форма заболевания диагностирована у 23 больных ОВГВ, в том числе в 4 случаях - безжелтушная, средней тяжести - у 58. тяжелая - у 18 больных. В 4 случаях заболевание осложнилось разви­тием острой печеночной недостаточности (ОПН). У 3 из этих больных наблюдалось прогрессирующее течение заболевания, развитие печеночной комы с летальным исходом.

Гепатит В+С в легкой форме переносили 29 больных, в том числе в 3 случаях - безжелтушную, средней тяжести - 21 больной, тяжелую - 6 больных. В 3 случаях тяжелое течение заболевания осложнилось развитием ОПН, в одном из них - печеночной комой и легальным исходом.

Все 11 больных ВГС переносили заболевание в легкой форме, безжелтушную - в 4 случаях.

Одновременно с общепринятым клинико-лабораторным обследованием в динамике заболевания у 94 больных изучали состояние процессов ПОЛ мембран по уровню малонового диальдегида (МДА) в лимфоцитах и в плазме крови в тесте с тиобарбитуровой кислотой (Андреева Л.И, и др., 1988; Пастушенков В. Л. и др., 1993). Состояние системы антиоксидантной защиты в лимфоцитах оценивали по степени активности супероксиддисмутазы (СОД) методом Fndovich J. (1989). Функционально-метаболическую активность лимфоцитов изучали по активности ключевых ферментов основных обменных циклов, сукцинатдегидрогеназа (СДГ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), альфа-глицерофосфатдегидрогеназа (альфа-ГФДГ) в цитозольной и митохондриальной изоформах. НАД-оксидаза и НАДФ-оксидаза методом С.Loida(1982).

Биосинтетическую активность лимфоцитов оценивали по величине коэффициента (альфа (К-альфа,), отражающего соотношение РНК/ДНК в методе люминесцентного микроспектрального анализа (Карнаухов В Н., 1978) Выраженность эндонуклеолиза ядерного хроматина характеризовали по уровню продуктов деградации нуклеотидов (ПДН), являющихся маркером данного процесса методом Иванника В П. и др.(198б).

Для оценки иммунного статуса 30 больных ОВГВ исследовали показатели клеточного, гуморального иммунитета и неспецифической резистентности. Иммунологические исследования проводились на базе НИЛ СПИД и инфекционных заболеваний в ВС РФ (ВМА) под руководством д.м.н Е.И. Змушко - начальника лаборатории.

Клинико-биохимическое и иммунологическое обследование больных ВГ проводили дважды - в периоды разгара заболевания и ранней реконвалесцснции. Полученные данные сопоставляли с результатами обследования 25 здоровых доноров и подвергли вариационно-статистической обра­ботке в соответствии с общепринятыми методами.

**РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

У подавляющего большинства больных ОВГВ уже с первых дней желтуш­ного периода выявлено значительное усиление процессов липопероксидации мембран лимфоцитов, о чем свидетельствовало достоверное повышение уровня МДА Так. при норме МДА в лимфоцитах (МДАл) 1,10±0,02 нмоль/2х106 кл. показатель был увеличен при легкой форме в 1.4 раза (1.54±0,04 нмоль/2х106. Р<0.001). при средней тяжести - в 1,5 раза (1,63±0,05 нмоль/2х106 кл, Р<0,001), при тяжелой- в 1,6-1,8 раза 1,89±0,12 нмоль/2х 106 кл, Р<0,001).

Уровень МДА в плазме крови (МДАпл) изменялся согласованно с показателями МДАл и превышал показатели здоровых лиц в 2,9-3,1 раза при легкой форме (38,9±2,27 нмоль/мл, норма - 12,6±0,52 нмоль/мл, Р<0,001). в 4,2-4,6 раза при средней тяжести (55,5±4,29 нмоль/мл, Р<0,001) и в 7,2-8,0 раза при тяжелой форме ОВГВ (96,5±8,88 нмоль/мл, Р<0,001). Таким образом, степень повышения уровня МДА соответствовала форме тяжести заболевания и имела достоверные различия показателя в плазме крови в зависимости от выраженности патологического процесса при всех формах тяжести ВГ Содержание МДАл имело достоверные различия у больных средней тяжести и тяжелой формой заболевания

Выявленное нами повышение количества продуктов ПОЛ в плазме крови отражает степень свободнорадикального повреждения мембран гепатоцитов. что является общепризнанным механизмом, обуславливающим выраженность проявления основных синдромов ОВГ (цитолитический, интоксикационный и синдром желтухи) (Дудник Л.Б,. 1988; Антонова Т.В. и др. 1991, Пак С Г., Никитин Е.В, 1991; Левина Л.Д и др., 1992).

Функционирование ИКК при развитии иммунного ответа сопровожда­ется активацией процессов ПОЛ в мембранах лимфоцитов (Ляшенко В.А. и др., 1988) и определяет их состояние и эффективность иммунологической защиты (Иванова В В. и др.. 1986; Лебедев К А, Понякина И.Д. 1986; Афонина Г.Б., Бордонос В Г., 1990). Выявленная корреляция уровня МДАч с формой тяжести ОВГВ отражает усиление процессов липопероксидации в мембранах лимфоцитов, соответствующее напряженности иммунного ответа.

По мере купирования патологического процесса наблюдалось снижение МДАл и МДАпл во всех обследованных группах, за исключением группы больных средней тяжести, где отмечено незначительное увеличение среднего уровня МДАл.

Хотя средние значения МДАл и МДАпл в период ранней реконвалес-ценции оказались достоверно выше контрольных значений, в динамике ОВГВ наблюдалась явная тенденция к их нормализации, наиболее демон­стративная при тяжелой форме (снижение содержания МДАл при легкой форме от 1,54±0,04 до 1,46±0,08 нмоль/2х106кл; при тяжелой форме - от 1,89±0.12 до 1,55±0,09 нмоль/2х106 кл; в плазме крови - при легкой форме от 38,9 ± 2,27 до 21,4 ± 3,96 нмоль/мл; при средней тяжести - от 55.5±4,29 до 34.4±3,95 нмоль/мл; при тяжелой форме - от 96,5±8,88 до 26,2±3,62 нмоль/мл).

В группе больных средней тяжести ВГВ среднее значение уровня МДАт в динамике заболевания имело тенденцию к повышению (от 1,6310.05 до 1,68±0,08 нмодь/2х106 кл) и было связано с тем. что у 31,8% больных наблюдалось увеличение показателя после курса АЛОК, который применялся в качестве дополнительного метода эфферентной терапии у пациентов с отклонениями в нормальном течении восстановительного периода (длительная гиперферментемия и антигенемия), расцениваемые многими авторами как критерии затяжной реконвалесценции (Соринсон С.Н., 1987, 1996, Угрюмова Б.Л. 1941; Шамшура ОЛ. Фролов А.В., 1994). Результаты изучения содержания МДА в лимфоцитах в этой группе больных значительно превышали средние (2,02+0,11 против 1,68+0,08 нмоль/2х106 кл, Р<0,05).

Вопреки тому, что многие авторы указывают на усугубление патологи­ческого процесса и. как следствие, большую выраженность функциональных нарушений печени и тяжесть клинических проявлений при развитии вирусных гепатитов смешанной этиологии, в частности В+С, мы не выявили существенных различий уровня МДАл и МДАпл на протяжении ОВГВ и гепатита В+С при всех формах тяжести Полученные нами данные свидетельствуют о повышении, в сравнении с показателями здоровых лиц. уровня МДАл в разгар легкой формы гепатита В+С в 1.4-1.5 раза (1,60+0,05 нмоль/2х106 кл, Р<0.001), в 1,6 раза при средней тяжести (1,72+0,05 нмоль/2\*106 кл. Р<0,001), в 1.6-1,8 раза при тяжелой форме (1,88+0,14 нмоль/2х106кл, P<0,001),

Содержание МДАпл изменялись аналогично показателю в лимфоцитах и соответствовали форме тяжести, при легкой форме - в 2,8-3,3 раза (38,9±4.90 нмоль/мл. Р<0.001). при средней тяжести - в 4,1-4,9 раза (57,4±7,23 нмоль/мл, Р<0.001). при тяжелой форме - в 5,8-7,3 раза (83.1±12,5 нмоль/мл. Р<0.001).

В период угасания основных клинико-биохимических проявлений гепа­тита В+С отмечалось снижение содержания МДАл и МДАпл, за исключе­нием группы больных легкой формой, где выявлена тенденция к повыше­нию среднего уровня МДАл (до 1,63+0,12 нмоль/2х106 кл), что связано с тем, что в данной группе 25% больных обследованы после курса АЛОК, результаты обследования которых достоверно превышали средние в груп­пе (2,46+0.23 нмоль/2х106 кл, Р<0.02).

Достоверное снижение МДАл в динамике гепатита В+С выявлено при средней тяжести (до 1.39+0,11 нмоль/2х106 кл. Р<0.05). В плазме крови содержание МДА в процессе развития заболевания достоверно снижалось при всех формах тяжести (легкая форма - до 24,5±4,43 нмоль/мл, Р<0,05, форма средней тяжести - до 24,8±5,45 нмоль/мл, Р<0.01; тяжелая форма -до 39,8±4,18 нмоль/мл, Р<0,01) и в реконвалесценцию существенно отли­чалось от показателей здоровых лиц только при тяжелой форме заболевания.

Сходные результаты активности ПОЛ при ОВГВ и гепатите В+С сви­детельствуют о близости механизмов патогенеза, что связано с единством путей и механизмов заражения и. возможно, определяющим значением вируса В на состояние лимфоцитов В то же время, согласно литературным данным, при гепатите В+С вирус гепатита С подавляет репликацию HBV, что оказывает влияние на течение микстинфекции (Корочкина О.В , Со­болевская О.Л.. 1996; Румянцев О.Н. и др. 1996). В целях выявления возможной зависимости этиологии вирусных гепатитов и степени активности процессов ПОЛ мы провели сравнительный анализ уровня МДАл и МДАпл в группе больных легкой формой ОВГВ, ВГС, ВГВ+С, Выбор данной группы обусловлен тем, что, во-первых. ОВГС в большинстве случаев протекает в легких, безжелтушных формах, а во-вторых, после легких форм ВГ, при которых, как правило, наблюдается слабый иммун­ный ответ, чаще развиваются затяжные и хронические формы заболевания (Редечкина С.И и др., 1-992; Соринсон С.Н. и др., 1996; Хазанов А И,, 1996, Lai M. et al, 1994; Van der Poel C.L , 1994) Было выявлено, что в разгар ВГС уровень МДАл достоверно не отличался от нормы (1,23+0,08 нмоль/2х106 кл), а уровень МДАпл в 4,3-5,6 раза превышал показатели здоровых лиц (63,0±10,6 нмоль/мл, Р<0,001). По мере купирования клинических проявлений ВГС наблюдалось увеличение уровня МДАл. Показатель в 1,3-1.4 раза превышал норму (1,48+0,04 нмоль/2х106 кл. Р<0.001) при нормализации уровня МДАлл (15,1 ±3,00 нмоль/мл).

Эти данные свидетельствуют о достоверно менее выраженных процес­сах липопероксидации в мембранах лимфоцитов в разгар ВГС в сравнении с ОВГВ и ВГВ+С по уровню МДА и более существенном повышении со­держания продуктов ПОЛ в плазме крови В динамике ВГС наблюдалась противоположная направленность изменения МДАл в отличие от ВГ дру­гой этиологии. Полученные данные могут быть следствием особенностей патогенеза ВГС, в частности, существующим в литературе мнением о ха­рактерном воздействии HCV на тропные органы и ткани, а именно, гепатоциты и мононуклеарные клетки периферической крови (Koskinas J et al.. 1994, Abrignani S., 1995; Dicpolder H M et al, 1995: Thomas H S.. 1995).

Вместе с тем, усиление ПОЛ в лимфоцитах по мере угасания клинико-биохимических признаков заболевания при ВГС может свидетельствовать о продолжающемся патологическом процессе, персистенции вируса и хронизации заболевания.

Как известно, в процессе развития любого инфекционного заболевания происходит формирование адаптационных реакций организма, которое осуществляется на различных уровнях - мембранном, органном, систем­ном и имеют универсальный характер при различной патологии (Антонова Т В.. 1996). Одной из этих систем являются компоненты АОЗ. так как от соотношения активности прооксидантных и антиоксидантных систем зави­сит степень активности процессов липопероксидации мембран

Мы выявили повышение активности одного из основных ферментов АОЗ - СОД в лимфоцитах в разгар ОВГВ, степень которого соответство­вала форме тяжести При нетяжелых формах заболевания активность СОД была увеличена в среднем в 1,4 раза (66,0±20,9 ед приликой форме и б6,3±12,3 ед при средней тяжести) и достоверно превышала норму (45,3±4,51 ед) у больных средней тяжести. При тяжелом течении ОВГВ активность СОД в желтушный период была повышена в 2,3-3,8 раза по сравнению со здоровыми лицами (142,0±48,0 ед. Р<0.001) и достоверно превышала аналогичный показатели” у больных средней тяжести. Эти ре­зультаты согласуются с данными других исследователей, выявивших по­вышение активности СОД в лимфоцитах при острой пневмонии (Плешкова С М., Жапарханова Р С., 1989), ОРВИ (Тихомирова О.В. и др . 1992), язвенной болезни желудка (Яковлев А А, Тарасова Г Н., 1995), инфекционно-аллергическом миокардите (Плешкова СМ и др., 1991), что является необходимым для нормального функционирования ИКК.

В период ранней реконвалесценции ОВГВ активность СОД при легком течении заболевания превышала норму в 2,3 раза (103,0±10,6 ед), при средней тяжести - в 2,1 раза (95,3±10,7 ед). что отражало продолжающееся компенсаторное усиление системы АОЗ. У больных тяжелой формой, на­против. в динамике заболевания происходило снижение активности фер­мента в 1,6-2,0 раза (90,0±10.0 ед), что может быть следствием истощения АОС Известно, что декомпенсация АОЗ наступает раньше и более выра­жено в ИКК, чем в других тканях (эритроциты, плазма и т д) (Матвейков Т П и др. 1994) и может служить одним из факторов, способствующих формированию иммунодефицита (Лукаш Н.А. и др.. 1995; Богатырев В Г и др., 1996)

При легкой форме гепатита В+С повышенная, по сравнению с нормой. активность СОД в 1,9-2.0 раза (90,0±10.0 ед, Р<0,001) в период разгара. сохранялась на протяжении всего заболевания и к периоду ранней рекон­валесценции составляла 88,3±30,0 ед.

Процессы свободнорадикального окисления в одинаковой мере затра­гивают все мембранные образования внутриклеточных структур и субкле­точные образования, в том числе оказывают дестабилизирующее влияние на ядерный хроматин Содержание продуктов деградации нуклеотидов (ПДН) в лимфоцитах в разгар ОВГВ повышалось вне зависимости от формы тяжести в 1.2-1,3 раза по сравнению с нормой (легкая форма -57,9±2,74%, Р<0,01; форма средней тяжести - б2.1±1.94%> Р<0,001; тяже­лая форма - 58,8±3.2%, Р<0,001, норма - 48.5+1,19%) К периоду ранней реконвалесценции содержание ПДН не менялось, оставаясь стабильно повышенным на протяжении всего заболевания.

При легкой форме ВГВ+С в период разгара происходило увеличение уровня ПДН в 1,4-1.5 раза (70.7±5,85%), что достоверно превышало норму. В реконвалесценцию показатель соответствовал уровню ПДН здоровых лиц (49,2±5,79%)

Содержание нуклеотидов в лимфоцитах можно оценить по показателю соотношения РНК и ДНК (Ко), отражающего биосинтетические процессы, усиление которых сопровождает клеточное деление и дифференцировку лимфоцитов в процессе развития иммунных реакций (Юсупова Л Б . Шевляков В В , 1993, Гладких С.И и др., 1995; Scott D. I., Lincoln Y.S , 1983) Усиление функциональной активности лимфоцитов по величине Ка на­блюдалось у всех больных ОВГВ в период разгара вне зависимости от формы тяжести. При норме 5,01+0.77 ед, у больных легкой формой Ко, был повышен в 1,6 раза (7.97+1.01 ед. Р<0,05), средней тяжести - в 1,8-1,9 раза (9,47±1,79 ед, РО.05), тяжелой формой - в 1.6-1,7 раза (8,3±1,2 ед. Р<0,02) В динамике гепатита Ко имел тенденцию к повышению у боль­ных легкой (9.55±2,74 ед) и формой средней тяжести (12.1+0,90 ед). При тяжелой форме показатель оставался стабильно повышенным на протяже­нии заболевания (8,28±3,71 ед), что может свидетельствовать о меньших компенсаторных возможностях биосинтетических процессов в ИКК.

Иммунная система, имеющая основное значение в развитии и проявле­ниях HBV- и HCV-инфекций. характеризуется определенным уровнем метаболизма своих клеточных элементов Снижение или повышение энер­гетики лимфоцитов отражает уровень реакций иммунной системы на раз­личные воздействия, что проявляется изменением активности ферментов основных обменных циклов (Захарова Л.Б и др. 1989, Робинсон М.В . 1989, 1994).

Метаболизм лимфоцитов больных ОВГВ существенно изменен за счет снижения активности альфа-ГФДГ - фермента глицеролфосфатного челночно­го механизма митохондриального переноса электронов, характеризующего напряженность энергетического обмена. Достоверное, по сравнению с нормой, снижение активности цитозольной изоформы альфа-ГФДГ в лимфо­цитах наблюдалось у больных легкой (0,17±0.01 ед. экс.. Р<0,01) и формой средней тяжести (0.19+0,01 ед. экс , Р<0,01), при норме - 0,28±0,02 ед. экс. Выявлена зависимость активности альфа-ГФДГ от формы тяжести наимень­шая при легкой форме ОВГВ и без существенного отличия от нормы - при тяжелой (0,21 ± 0,02 ед. экс. ). Активность митохондриальной изоформы альфа-ГФДГ имела тенденцию к снижению в разгар гепатита. По мере купирования острых проявлений заболевания прослеживалась тенденция к повышению активности обеих изоформ альфа-ГФДГ при легкой и форме сред­ней тяжести и к снижению - при тяжелом течении ОВГВ.

Активность одного из ферментов основного пути окисления (цикла Кребса) - сукцинатдегидрогеназы (СДГ) во всех группах обследованных нахо­дилась в пределах показателей здоровых лиц.

Изучение активности основного фермента анаэробного окисления (гликолиза) - лактатдегидрогеназы (ЛДГ) показало тенденцию к ее сниже­нию в разгар ОВГВ. Достоверное уменьшение показателя в сравнении с нормой было у больных средней тяжести (0,22±0,01 ед зкс., норма - 0,29±0,02 ед экс , Р<0,05) При легкой форме этот показатель находился в пределах 0.2±0.01 ед экс, тяжелой - 0,20+0,01 ед. экс. В период ранней реконвалесценции выявленное изменение активности ЛДГ во всех группах сохранялось без существенной динамики.

У больных ОВГВ выявлена тенденция к снижению активности НАД- и НАДФ-оксидаз, осуществляющих восстановление окисленных форм НАД и НАДФ, необходимых для синтеза АТФ. Данные показатели не различа­лись у больных обследованных групп. Достоверно низкими, по сравнению с нормой, были показатели активности НАДФ-оксидазы у больных сред­ней тяжести, как в разгар, так и в период ранней реконвалесценции.

У больных легкой формой гепатита В+С активность изученных фер­ментов в лимфоцитах имела изменения, аналогичные легкой форме ОВГВ. за исключением активности ЛДГ, которая была достоверно снижена в разгар заболевания по сравнению со здоровыми лицами (0,19±0,01 ед экс, Р<0,02) и оставалась сниженной в восстановительный период (0.175±0,006 ед. экс.) и активности НАДФ-оксидазы, достоверно снижен­ной по сравнению с нормой в период разгара и в период ранней реконва­лесценции (0.09±0,01 ед. экс, Р<0,05 и 0,080+0,004 ед, экс., Р<0,02, соот­ветственно).

Несмотря на отсутствие достоверньк отличий от показателей здоровых лиц активности большинства изученных ферментов, выявленные измене­ния свидетельствуют о сдвигах в биоэнергетических процессах и внутри­клеточном метаболизме лимфоцитов в ходе развития иммунного ответа на HBV- и НВС-инфекции, что может оказывать влияние на функционирова­ние ИКК и иммунной системы в целом. Учитывая выявленные нарушения обменных процессов, происходящих в лимфоцитах. представляло интерес изучить показатели Т- и В-клеточного звена иммунитета и состояние неспецифической резистентности у больных ОВГВ.

Как показали наши исследования, изменения клеточного звена им­мунной системы у больных острой HBV-инфекцией характеризовались нарушением регуляции и количественным дисбалансом субпопуляций Т- и В-лимфоцитов и изменением функциональных возможностей ИКК, что соответствуют литературным данным ( Юшук Н Д и др. 1994, Соринсон С.Н. и др., 1996; Чешик С.Г и др., 1996: Barhaba V ct al., 1993; Davis G L . 1993, Moreno Otero R. et al., 1996, Chisari F V.. 1997).

Таким образом, обнаруженные изменения в иммунном статусе больных ОВГВ, по данным большинства показателей, оказались несущественными, что свидетельствует о достаточности компенсаторных механизмов, разви­вающихся в ответ на вирусную гепатитную инфекцию. В то же время, выявленные нами функционально-метаболические сдвиги в основной ра­бочей клетке иммунной системы - лимфоците являются более чувстви­тельным индикаторным методом оценки состояния ИКК, которые оказы­вают влияние на состояние и функционирование иммунной системы в целом, что отражается на течении и исходах вирусных гепатитов В, С. В+С

**ВЫВОДЫ**

1 В разгар ОВГВ у большинства обследованных больных выявлено усиление процессов липопероксидации в лимфоцитах и в плазме крови. характеризующееся увеличением уровня вторичного продукта ПОЛ - ма­лонового диальдегида Аналогичные изменения обнаружены у больных гепатитом В+С

Степень повышения уровня МДА соответствовала форме тяжести- При тяжелой форме показатель был достоверно выше- чем у больных легкой и средней тяжести.

2. При вирусных гепатитах различной этиологии (ОВГВ. ВГС. ВГВ+С) установлены разнонаправленные изменения показателей интенсивности ПОЛ в лимфоцитах.

В разгар легкой формы ОВГВ и ВГВ+С выявлено достоверное увели­чение уровня МДА в лимфоцитах По мере угасания клинических и био­химических признаков гепатита выявлена тенденция к снижению показа­теля МДА, но *у* 90,0% больных показатель был выше нормы.

При легкой форме ВГС уровень МДА в разгар заболевания не отличал­ся от нормы, а к периоду реконвалесценции был достоверно повышен.

3. По мере угасания клинико-биохимических проявлений гепатита об­наружено снижение уровня МДА у большинства обследованных больных, значения которого оставались достоверно выше показателей здоровых лиц

У больных, обследованных в первые дни после курса АЛОК отмечено на фоне уменьшения активности АлАТ значительное повышение уровня МДА в лимфоцитах.

4 Усиление антиоксидантной защиты в лимфоцитах при ОВГВ харак­теризуется увеличением активности ее основного фермента - супероксиддисмутазы в разгар легкой и среднетяжелой формы в среднем в 1,4 раза, тяжелой - в 2,3-3,8 раза. В динамике заболевания наблюдается еще большее увеличение активности СОД при нетяжелых формах и, напротив. снижение показателя у больных тяжелой формой ОВГВ,

5 Усиление процессов ПОЛ в лимфоцитах закономерно приводит к усилению эндонуклеолиза, деструкции хроматина и выходу продуктов деградации нуклеотидов в цитозоль клетки. Это подтверждается стабильно увеличенным содержанием ПДН в лимфоцитах на протяжении ОВГВ при всех формах тяжести,

6. При ОВГВ происходит изменение внутриклеточного метаболизма лимфоцитов, о чем свидетельствует достоверное снижение активности альфа-ГФДГ при формах легкой и средней тяжести и НАДФ-оксидазы при среднетяжелом течении.

При легкой форме ВГВ+С активность ферментов была аналогична по­казателям при легкой форме ОВГВ

7 Структурно-функциональные и метаболические изменения в лимфо­цитах при ОВГВ, ВГС и ВГВ+С соответствуют форме тяжести и периоду заболевания и связаны с активацией иммунокомпетентных клеток при гепатитной инфекции, что имеет патогенетическое значение и может служить дополнительным критерием оценки тяжести и прогноза течения за­болевания.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В качестве дополнительного критерия оценки формы тяжести и прогнозирования течения вирусных гепатитов В, В+С с первых дней желтушного периода рекомендуется использовать определение уровня вторичного про­дукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА) в лимфоцитах и в плазме крови.

Увеличение показателя МДАл более, чем в 1.6 раза и МДАпл - в 7 и более раз позволяет прогнозировать тяжелое течение заболевания у боль­шинства больных

Динамическое наблюдение за активностью СОД в лимфоцитах при ОВГВ позволяет прогнозировать тяжелое течение гепатита при увеличении показателя в разгар в 2,0 и более раз.

Выявление функционально-метаболических и структурной сдвигов в лимфоцитах рекомендуется как ранний и чувствительный метод определе­ния состояния иммуннокомпетентнь1х клеток для оценки состояния систе­мы иммунитета в целом, в частности, по показателям уровня МДА, ПДН, Ка, активности СОД. альфа-ГФДГ, ЛДГ и НАДФ-оксидазы,

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1 Иммунобиохимические критерии тяжести и прогноза острого вирус­ного гепатита В//Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения: Тез. докл. научн. конф, - СПб., 1995, - С. 313-314. (в соавт. с Т.В. Анто­новой, И.В. Жицковой. Н.В. Карицкой),

2. Роль прооксидантной и антиоксидантной систем в патогенезе -вирусного гепатита в//Росс. журн. гастроэнтер., гепатол. колопрокт, - 1995. -N3, Т 5, Прилож. N1. - С. 8. (в соавт.с Т В.Антоновой, В Б.Барановской).

3. Биоэнергетический метаболизм лимфоцитов при остром вирусном гепатите в//росс. журн гастроэнтер., гепатод., колопрокт. -1996 - N4, Т.6, Прилож. N3. " С. 307 (в соавт с Т.В, Антоновой)

4 Уровень (бетта2-микроглобулина и состояние мембран лимфоцитов в ди­намике вирусного гепатита В//Журн. микробиол. -1996 - N6. - С 82-83. (в соавт. с Т.В, Антоновой. И.В. Жицковой, М.А Вашуковой)

5. Мембранно-метаболические свойства лимфоцитов при остром ви­русном гепатите В//Матер. 3-й Российской гастроэнтерологической неде­ли.-М . 1997 - C.134. (в соавт с Т.В. Антоновой).