в неонатальном периоде. Это были проявления фетального гепатита на почве врождённой персистирующей инфекции (герпетической, цитомегаловирусной, хламидийной, микоплазменной этиологии, токсоплазмоз) – у 7 человек (7,6 %). Гемолитическую болезнь новорождённых в тяжёлой форме перенесло 4 детей (4,3 %) с последующим формированием фиброза печени. Врождённый вирусный гепатит «В» с трансплацентарным путём инфицирования имело 2 пациента (2,2 %), причём, в обоих случаях отмечалась высокая степень активности уже в неонатальном периоде. Ещё у 2 детей (2,2 %) были проявления муковисцидоза с гепатопанкреатоинтестинальной симптоматикой. У них в последующем на фоне сгущения жёлчи сформировался холестатический синдром с трансформацией в цирроз печени. И в одном случае мы наблюдали пациента с первичным идиопатическим фиброзом печени.

Выводы. Как видно из вышесказанного, СПГ в большинстве своих случаев начинает формироваться уже в перинатальный период и имеет вторичный характер, являясь осложнением целого ряда заболеваний, поражающих печень и портальную сосудистую систему. Следовательно, целенаправленное раннее выявление вышеперечисленной патологии, её своевременное и комплексное лечение, а по возможности и профилактика, позволит предупреждать развитие такого недуга как СПГ.

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА СПЕКТР ЛИПИДОВ В ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГАХ И ИХ ЯДРАХ

Трофимов В. А., Аксенова О. Н., Дудко А. А., Власов А. П.
Мордовский государственный университет имени Н.П.Огарева Саранск

Эффективность воспалительного процесса во многом определяется функциональным статусом макрофагов, которые являются долгоживущими клетками и отличаются высокой реактивностью. В очаге воспаления макрофаги генерируют различные медиаторы, в число которых входят цитокины, ростовые факторы, а также свободные радикалы. Под влиянием химических соединений в макрофагах модифицируются функциональная активность и метаболизм. Среди прочих молекулярных компонентов высокой лабильностью отличаются липиды. В этой связи, очевидно, что изменение спектра клеточных липидов, основным из механизмов, модификации которого выступает перекисное окисление липидов, будет зависеть от «токсичности» окружающей клетку среды и собственно клеточной активности. Отметим, что структурная и функциональная роль липидов реализуется как в плазматической мембране, в мембранах клеточных органелл, так и в ядре. Последнее, безусловно, важно для сохранения функционального статуса клетки, поскольку при участии липидов могут поддерживаться и реализовываться такие генетические процессы как транскрипция и репликация. В то же время при воспалении возникают серьезные предпосылки для нарушения генетических процессов и гибели клеток.

В настоящей работе представлены данные об изменениях в спектре липидов перитонеальных макрофагов и их ядер, изолированных из экссудата брюшной полости людей, больных острым перитонитом, при действии перекиси водорода. Подчеркнем, что выявленные особенности липидного спектра макрофагов, отражают их патогенетический статус, сформированный в ходе воспалительного процесса.

Перитонеальную жидкость на холоду отмывали в среде Хенкса и концентрировали до $3x10^6$/мл. Жизнеспособность макрофагов определяли в тесте с трипановым синим. Апоптотически измененные клетки выявляли методами флуоресцентной и световой микроскопии, используя акридиновый оранжевый (Sigma) и Гимза (Merk). Ядра перитонеальных макрофагов получали центрифугированием в градиенте сахарозы. Экстракцию липидов проводили по методу Folch с соавторами (1957), используя смесь хлороформ-метанол (2:1, по объему). Хроматографическое разделение проводили на силикагелевых пластинах (Merk). Количественное определение липидов, после проявления 10%-ной фосфорномолибденовой кислотой, производили непосредственно на хроматограммах с помощью денситометра Model GS-670 (BIO-RAD, США).

В перитонеальных макрофагах, выделенных из воспалительного экссудата человека, обнаруживаются фракции фосфатидилхолина (в среднем 32,7 %), фосфатидилэтаноламина (29,9 %), сфингомиелина (4,5 %), фосфатидилсерина (8,0 %), фосфатидилинозита (14,7 %), лизофосфолипидов (11,2 %). В ядрах же состав липидов имеет качественные и количественные отличия: на долю фосфатидилхолина приходится 21,2 %, фосфатидилэтаноламина – 23,7 %, сфингомиелина - 6,9 %, фосфатидилсерина - 18,9 %, фосфатидилинозита - 25,1 %, лизофосфолипидов - 4,7 % от общего содержания липидов.

Спектр нейтральных липидов перитонеальных макрофагов включает свободный холестерол (43,7 %), свободные жирные кислоты (4,1 %), триацилглицеролы (5,1 %), диацилглицеролы (11,9 %), моноацилглицеролы (3,8 %), эфиры холестерола (31 %). В ядрах перитонеальных макрофагов выявляются холестерол (46,7 %), свободные жирные кислоты (10,1 %), триацилглицеролы (9,4 %), эфиры холестерола (21,2 %), диацилглицерол (6 %), моноацилглицерол (6,6 %).

Спектр липидов ядер перитонеальных макрофагов отличается от состава липидов макрофагов: возрастают доли свободных жирных кислот, триацилглицеролов, фосфатидилсерина, фосфатидилинозита, сфингомиелина. Как свидетельствуют данные литературы, липиды играют важную роль в структурно-функциональной организации ДНК. Очевидно, что состав индивидуальных липидов ядер и собственно макрофагов, изолированных из очага воспаления в брюшной полости, отражает генетический статус клеток и степень их активации, обусловленную многофакторной стимуляцией.

Перекись водорода (1 ммоль) индуцирует морфологические изменения в перитонеальных макрофагах максимально после 5-6 часов инкубации. При этом реализуются потенциальные возможности гибели клеток путем апоптоза или некроза. Некротические

клетки выглядели набухшими, вакуолизированными, имели поврежденную мембрану. Ядра таких клеток флуоресцировали оранжевым или желтым светом. Ядра клеток, погибающих путем апоптоза, имели зеленую флуоресценцию, округлую форму, содержали хроматин, конденсированный по периферии или хроматин, плотно конденсированный в виде шара, отличались уменьшенным размером. Подчеркнем, что перекись водорода (1 ммоль) в период наблюдения приводила к гибели перитонеальных макрофагов большей частью по пути апоптоза. Апоптоз связан с деградацией ДНК. При этом в ядре и в целом в клетке запускается механизм, приводящий к гибели клетки. Очевидно, что процесс деградации ДНК должен включать и изменения в составе липидов, как клеток в целом, так и их ядер.

Действительно, в спектре липидов происходят существенные перестройки. При этом перекись водорода стимулирует дозозависимым образом процессы перекисного окисления липидов, способствуя накоплению диеновых и триеновых коньюгатов, малонового диальдегида как в макрофагах, так и их ядрах.

Под влиянием перекиси водорода в ядрах перитонеальных макрофагов возрастает доля сфингомиелина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилхолина, уменьшается содержание фосфатидилинозита, фосфатидилсерина, резко понижается доля лизофосфатидилхолина. В целом же в макрофагах под влиянием перекиси водорода происходит накопление фосфатидилсерина (очевидно в плазматической мембране), фосфатидилинозита, сфингомиелина, понижение доли фосфатидихолина.

В спектре нейтральных липидов макрофагов при действии перекиси водорода отмечено относительное увеличение доли эфиров холестерола, триацилглицеролов, уменьшение содержания свободных жирных кислот и диацилглицеролов. В ядрах макрофагов отмечено увеличение концентрации свободного холестерола, уменьшение содержания свободных жирных кислот, эфиров холестерола, нейтральных жиров.

Таким образом, под влиянием перекиси водорода в спектре липидов макрофагов и их ядер индуцируются перестройки. В частности, изменения в содержании фосфатидилинозита, диацилглицерола, свободных жирных кислот могут быть связаны с активизацией их обмена в рамках фосфоинозитидного цикла, сфингомиелина - сфингомиелинового цикла. В частности, сфингомиелиновый цикл напрямую связан с индукцией апоптоза. Кроме того, под влиянием перекиси водорода могут индуцироваться свободнорадикальные процессы, в ходе которых в ДНК усиливаются повреждения и возрастает риск накопления мутаций. Перекись водорода может использоваться как эффективный индуктор апоптоза, позволяющий выявить и элиминировать популяцию клеток с генетическими повреждениями, причем относительно безболезненно для организма. При этом изменения в спектре липидов макрофагов и их ядер под влиянием перекиси водорода, по-видимому, происходят не только вследствие деградации ДНК, но и могут в определенной мере способствовать этому процессу.

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ГЛУТАТИОНА И ЕГО ФРАКЦИЙ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

Филипенко П.С., Титоренко М.В., Потапов Г.В.
Ставропольская государственная медицинская академия, Ставрополь

Цель и задачи: изучить зависимость изменений количества глутатиона и его фракций в плазме крови от формы острого панкреатита.

Методы исследования: обследованы 21 донор и 48 больных различными формами острого панкреатита, подтверждённого клинически и во время операции. Концентрацию глутатиона и его фракций определяли по методу Paglia O., Valenite W. (1967) и выражали в нмолях на 1 мг белка.

Изложение материала: все больные поступали в хирургическое отделение в экстренном порядке. Диагноз острого панкреатита устанавливали на основании клинических проявлений заболевания, общеклинических исследований крови, положительной амилазурической пробы, рентгенологических и эндоскопических исследований желудка и двенадцатиперстной кишки, а в некоторых случаях после лапароскопии органов брюшной полости. В зависимости от формы панкреатита больные были разделены на две группы: в первую вошли 38 пациентов с отёчной формой, а во вторую – 10 больных с деструктивным панкреатитом. Содержание глутатиона и его фракций определялось у больных с различными формами острого панкреатита при поступлении в стационар.

Анализируя показатели глутатиона доноров, обнаруживается, что в плазме крови преобладает восстановленная форма глутатиона (86,2%) над окисленной (17,4%), (соответственно 27,748±0,490 и 5.867±0,490 нмоль/мг белка).

В остром периоде заболевания у больных с отёчной формой острого панкреатита наблюдалось увеличение общего пула глутатиона с 33,615±0,510 (доноры) до 62,509±0,839 нмоль/мг белка ($p<0,001$).Нарастание общего пула глутатиона происходило как за счёт окисленной, так и восстановленной формы глутатиона (соответственно 25,195±0,937 и 37,314±0,797 нмоль/мг белка; $p<0,001$).

У пациентов с панкреонекрозом увеличение общего пула глутатиона менее выражено, чем у пациентов с отеком поджелудочной железы, и составляет 60,567±0,891 нмоль/мг белка. Нарастание общего пула глутатиона в сыворотке крови больных происходило только за счёт окисленной формы, доля которой возросла с 17,4 (доноры) до 58,4% (больные с панкреонекрозом), а количество восстановленной формы снизилось по сравнению с донорами (соответственно 25,363±1,012 и 27,748±0,490 нмоль/мг белка; $p>0,05$).

Выводы: 1. Нарастание общего пула глутатиона в крови больных острым панкреатитом происходит как при отечной форме, так и при панкреонекрозе.

2. У больных с отеком поджелудочной железы происходит увеличение количества глутатиона как за счет окисленной, так и восстановленной формы.

3. У больных с панкреонекрозом увеличение количества глутатиона происходит только за счёт его