

В.16.36.002.14(043.3)
С12

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УССР

**КИЕВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ИМ. АКАД. Л.В. ГРОМАШЕВСКОГО МЗ УССР**

На правах рукописи

УДК 616.36.002.14:578.891.051.31

САВЕЛЬЕВ

Валерий Григорьевич

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА
БЕЛКОВ ЖЕЛЧИ У БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ
(14.00.10. - инфекционные болезни)**

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

Киев - 1985г.

Работа выполнена в Запорожском медицинском институте

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук доцент Р.С. ЛЫСЕНКО

доктор медицинских наук профессор Л.Л. ГРОМАШЕВСКАЯ

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук профессор М.А. АНДРЕЙЧИН

доктор медицинских наук Н.В. ТАТЬЯНКО

Ведущее учреждение – Рижский медицинский институт.

Защита состоится " _____ " _____ 1986 г. в _____ часов на заседании Специализированного совета Д.0880402 при Киевском научно-исследовательском институте эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского МЗ УССР (252038 Киев, ул. Степана Разина, 4).

Автореферат разослан " _____ " _____ 1985 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета

В. К. КОЗАЛЬЧУК

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В последние годы, несмотря на значительные достижения в борьбе с инфекционными болезнями, по всему миру отмечается тенденция к увеличению заболеваемости вирусным гепатитом (ВГ). Нельзя не отметить и тот факт, что ВГ болеет преимущественно люди молодого работоспособного возраста, что не только отягощает жизнь самого больного, но и наносит большой народнохозяйственный ущерб. Распространенность этого заболевания, вариабильность клинических форм, развитие различных осложнений, сопровождающихся нарушением функции печени и желчных путей, переход в хронические формы обуславливают необходимость разностороннего изучения данной проблемы (А.Ф.Блюгер, 1980; О.А.Дунаевский, 1985; Е.С.Кетиладзе с соавт., 1983; С.Н.Соринсон с соавт., 1984; Н.А.Фарбер, 1985; А.Ф.Фролов, Б.Л.Угрюмов, Н.В.Татьянко и соавт., 1985).

Важным является изыскание способов не только ранней диагностики острых циклических форм ВГ, но и ациклических форм с целью профилактики возможных неблагоприятных исходов, в частности хронического гепатита и цирроза печени. В последние годы много внимания уделяется характеристике поражений желчевыводящих путей при ВГ.

Для оценки состояния гепатобилиарной системы большое внимание стали придавать биохимии желчи (М.А.Андрейчин, 1979; Л.Л.Громушевская, 1979; В.А.Галкин, В.А.Максимов, 1975; А.И.Иванов, 1980; Н.А.Скуя, 1964; 1972; И.И.Шелекетина, 1973). Появились работы, посвященные изучению содержания общего белка и состава белков желчи (К.Б.Бахадуров с соавт., 1982; А.И.Иванов, 1980; О.Я.Ковш с соавт., 1973; А.И.Паченко с соавт., 1980; Н.М.Синицина с соавт., 1984), однако большинство исследователей интересовало главным образом, вопрос: "Является ли протеинолия фактором способствующим камнеобразованию и фактором воспалительного процесса?". Полученные сведения оказывались иногда

ВМ-0105/2

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

противоположными. Существующие разногласия обусловлены методическими трудностями, с которыми исследователи сталкивались при определении содержания общего белка и идентификации состава белков желчи. В связи с этим в литературе приводятся различные концентрации белка в желчи не только при патологии, но и у здоровых людей (от 1 до 12 г/л) (К.Б.Бахадиров с соавт., 1982; А.Ф.Гарифдзанова, 1983; В.С.Давидик, 1969; А.И.Ицанов, 1980).

Применение метода диск-электрофореза в полиакриламидном геле (ДЭФ в ПААГ) и его быстрое развитие в последнее время позволило более точно производить анализ различных биополимеров. Но, несмотря на использование современных методов электрофореза, вопрос о составе белков желчи остается до конца нерешенным. Интерес представляет изучение состава белков у больных ВГ, так как поражение желчных путей при этом заболевании, как известно, занимает большой удельный вес (М.А.Андрейчин и соавт., 1983; Б.Л.Угрюмов и соавт., 1985). Сопутствующая патология желчевыводящих путей нередко определяет тяжесть течения болезни, приводит к развитию длительных холестазов, к обострению эндогенной инфекции и хронизации процесса. Вместе с тем своевременная диагностика таких осложненных форм ВГ остается несовершенной.

Цель работы. Дать клиническую оценку состава белков желчи у больных ВГ острым и затяжным течением в аспекте дифференциального диагноза и прогноза; разработать критерии диагностики воспалительного поражения желчевыводящих путей.

Задачи работы. 1. Изучить содержание общего белка и состава белков желчи у больных острым и затяжным вирусными гепатитами и у больных хроническими заболеваниями желчных путей в аспекте дифференциального диагноза и прогноза.

2. Определить лабораторные критерии, позволяющие диагностиро-

вать воспалительное поражение желчевыводящих путей при ассоциированных формах вирусных гепатитов.

3. Усовершенствовать метод определения общего белка в желчи; провести идентификацию белков желчи и выяснить их происхождение. Научная новизна результатов работы. В работе уточнены данные о содержании общего белка и его фракционного состава у здоровых людей. Доказано, что в желчи имеются белки идентичные с таковыми сыворотки крови, поджелудочной железы и истинные белки желчи. Получены новые данные о составе белков желчи при остром и затяжном течении ВГ и определено клиническое значение их исследования у больных ВГ. По показателям состава белков желчи определены критерии перехода острого вирусного гепатита в затяжной. В работе установлено диагностическое значение определения общего белка и белкового состава желчи в распознавании сопутствующего поражения желчных путей при ВГ. Показано влияние гормональной терапии на белковообразовательную функцию печени. Разработан метод определения общего белка в желчи, который может быть использован в любой биохимической лаборатории практического здравоохранения.

Практическая ценность работы. Использование полученных нами новых данных об изменении содержания белков желчи при различных вариантах ВГ будет способствовать: 1) раннему выявлению больных, которые могут быть отнесены в "группу риска" в отношении перехода в затяжные и хронические формы гепатита, что позволит дифференцированно подходить к лечению и диспансерному наблюдению; 2) улучшению диагностики холециститов, протекающих на фоне вирусного гепатита, часто в латентной форме.

Доступность метода определения общего белка и проведенная идентификация белков желчи позволят расширить применение этого метода в клинической практике для диагностики воспалительных поражений гепатобилиарной системы.

Внедрение в практику. Основные положения диссертации нашли свое отражение в опубликованных работах, перечень которых приводится в конце автореферата. Внедрено 6 рацпредложений. Практические разработки представлены в двух методических рекомендациях (написанных в соавторстве). Основные теоретические положения диссертации используются в курсе инфекционных болезней, который читается студентам Запорожского медицинского института.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на: 1) областной научно-практической конференции инфекционистов и эпидемиологов (Запорожье, 1983); 2) III съезде республиканского научного общества врачей-лаборантов (Ужгород, 1983); 3) конференциях молодых ученых Запорожского медицинского института (1983, 1985); 4) совместном заседании кафедры инфекционных болезней, кафедры биохимии Запорожского медицинского института, кафедры клинической и лабораторной диагностики Запорожского государственного института усовершенствования врачей (ноябрь 1984).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных наблюдений (5 глав), заключения и выводов. Диссертация иллюстрирована 32 таблицами и 23 рисунками. Библиография включает 136 работ отечественных и 81 - иностранных авторов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 научных работ, 2 методических рекомендаций, получено 6 удостоверений на рацпредложения.

Материалы и методы. Характеристика обследованных больных.

Под наблюдением находилось 124 больных ВГ в возрасте от 15 до 60 лет. Большинство из них до 30 лет (75%). Из 124 больных ВГ 97 перенесли ВГ А и 27 ВГ В, из них 76 с острым течением болезни и 48 - с затяжным. Диагноз ВГ устанавливали на основании клинической картины и данных эпидемиологического анализа в соответствии с приказом МЗ СССР от 8 июля 1981 года. При остром течении ВГ А

35 больных перенесли легкую форму болезни (61,4%), 20 больных форму средней тяжести (35,1%) и 2 больных тяжелую форму с затяжным течением ВГ А было соответственно - 14 (35,6%), 22 (56,4%) и 3 (7,7%) больных.

Диагноз вирусного гепатита В устанавливался по данным эпидемиологического анамнеза, клиники и подтверждался обнаружением Ив ϵ А_g методом встречного иммуноэлектрофореза (ВЭФ). Больные вирусным гепатитом В разделились следующим образом: с острым течением заболевания 19 человек (легкая форма - 6, средней тяжести - 6, тяжелая - 7). С затяжным течением ВГ наблюдалось 9 больных (с легкой формой - 2, средней тяжести - 2 и тяжелой - 5).

При определении тяжести болезни учитывались как длительность и выраженность симптомов интоксикации, так и интенсивность желтухи, степень билирубинемии и других биохимических показателей сыворотки крови. В группу больных с затяжным течением ВГ включались больные, у которых длительность болезни превышала 2 месяца. При этом основными критериями выздоровления считались нормальное самочувствие и стойкая нормализация биохимических показателей крови (уровень билирубина, тимоловой пробы, активность АЛАТ). Кроме того, было обследовано 32 больных, оперированных по поводу заболеваний желчных путей. Необходимость в обследовании последней группы больных обусловлена возможностью гистологического подтверждения воспалительного процесса в желчных путях.

Из 32 больных, оперированных в хирургических отделениях областной клинической и третьей городской больниц на желчных путях, наличие камней в желчном пузыре и желчных протоках обнаружено у 20 человек. У остальных больных были следующие диагнозы: рак поджелудочной железы - 6 человек, острый и хронический панкреатит - 3, острый гнойный бескаменный холецистит - 2, цирроз печени, застойный желчный пузырь - 1. Все оперированные больные разделены на две груп-

ли - с наличием гнойного процесса в желчном пузыре (I9) и без изменений в желчном пузыре (I3). В качестве контрольной группы обследовано 23 практически здоровых человека от 22 до 50 лет.

У всех обследованных определялись: билирубин в сыворотке крови, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и тимоловая проба. Всего обследовано 179 человек, выполнено 671 специальное исследование желчи.

Содержание общего белка и фракций белков желчи изучалось в периоде реконвалесценции ВГ, при спаде желтухи. Желчь получали обычным унифицированным методом дуоденального зондирования. У ряда больных, в частности, при повышенном содержании общего белка в желчи, исследования проводились в динамике. У больных, оперированных на желчных путях, желчь получали непосредственно во время операции. У II человек с целью идентификации состава белков исследовалась желчь после операции (дренажная желчь).

У всех больных параллельно с исследованием общего белка и фракций белков определялся холато-холестеринный коэффициент (ХХК) желчи как показатель, характеризующий состояние желчевыводящих путей и таким образом, позволяющий правильно трактовать полученные результаты в оценке воспалительного процесса в желчных путях.

Методика проведения исследований. В результате проведенных нами исследований оказалось, что простой перенос общесизвестных биуретовых методов определения общего белка на желчь невозможен из-за влияния билирубина. Для исключения этого фактора нами разработана модификация существующего метода. В качестве прототипа взят метод определения общего белка в спинномозговой жидкости, основанный на предварительном осаждении белка трихлоруксусной кислотой (ТХУ) с последующим проведением биуретовой реакции (А.Г. Глэтер, Л.Хейльмер), 1966). Новым признаком разработанного способа является то, что после осаждения белка проводят экстракцию билирубина спирто-

ацетоновой смеси (САС). При этом спирт и ацетон в этой смеси находятся в пропорции 1:1, а желчь и САС в пропорции 1:2.

При изучении спектра белков желчи использован метод ДЭФ в 7,5% ПААГ по Davis и Ornstein (1964) на приборе ПЭФА-1. В каждую трубку вносили 0,1 мл предварительно концентрированной желчи. Электрофорез проводили при силе тока 2 мА на каждую трубку. Прозрачность гелевого столбика дает возможность применения денситометрии для количественного определения отдельных белков. Пересчет денситограммы состава белков в абсолютные цифры проводился путем взвешивания их отрезков на аналитических весах.

Для изучения белковых фракций желчи использовано деление гелевого столбика на определенные зоны. Каждую белковую фракцию, присутствующую в желчи обозначали номером (от 1) в порядке возрастания, начиная от наиболее подвижной пигментной фракции. Для определения местоположения белковых фракций рассчитывали R_f - соотношения расстояния от старта до искомой фракции к расстоянию от старта до финиша. За финиш принимали наиболее подвижную часть пигментной фракции.

Для идентификации белков желчи использованы методы электрофореза в полиакриламидном геле и определение белков количественными методами иммуноэлектрофореза в различных комбинациях: перекрестный линейный иммуноэлектрофорез по Мореллу и тандемный иммуноэлектрофорез (В.А.Березин, 1984; Б.Вееке, 1977). Для выявления белков-ферментов применен метод электрофореза в ПААГ с последующей разрезкой геля на фракции и определением ферментативной активности по В.Г.Колбу, В.С.Камышникову (1982), Б.П.Сурикову, С.Е.Манойлову (1965).

У всех больных определялся ХХК по методу В.П.Мирошниченко (1978). Статистическая обработка всех полученных данных проводилась общепринятым (Л.С.Каминский, 1959, 1964; И.А.Ойвин, 1960) ме-

ведом вариационной статистики.

Результаты исследований и их обсуждение.

1. Состав белков желчи у здоровых людей,

Согласно современным данным, имеются значительные противоречия в мнениях о содержании общего белка в желчи у здоровых людей. Проведенные нами исследования желчи здоровых людей показали, что содержание общего белка в дуоденной порции желчи = $2,65 \pm 0,57$ г/л, в печеночной порции = $1,13 \pm 0,36$ г/л.

По современным воззрениям, белки желчи в норме имеют различное происхождение. В основном это белки сыворотки крови, а также панкреатического и дуоденального содержимого. Перекрестный тандемный и перекрестно-линейный иммуноэлектрофорез позволили заключить, что белки желчи не являются в полном смысле сывороточными белками, как это предполагали (Dive Ch. с соавт., 1974). Полную иммунохимическую идентичность имеют также белки желчи, как преальбумин,

α_1 -ингибитор протеиназ и γ_2 А. Альбумин, α_2 -липопротеин, орозо-мукоид характеризуются неполной иммунохимической идентичностью или потому, что являются "незрелыми" белками или потому, что подвергались какой-то модификации. Остальные белки желчи не показали иммунохимической идентичности с белками сыворотки крови.

Электрофорез в ПААГ с последующей разрезкой геля на фракции, элюцией и определением ферментативной активности амилазы и протеиназы показал, что в трансфериновой области и на старте обнаружены три фракции α -амилазы. Нейтральная протеиназа идентифицирована вблизи старта перед третьей фракцией α -амилазы.

У здорового человека в желчи при окрасе гелевых столбиков "амидочерным ГСБ" определено до 13 белковых фракций. Выявлено незначительное содержание в желчи здоровых людей белков, идентичных белкам сыворотки крови. Преальбумин, альбумин с орозо-мукоидом,

α_1 -липопротеин с ингибитором протеиназ и γ_2 А составили 23%

содержания всех белков желчи. 77% приходится на белки с ферментативной активностью α - амилазы, нейтральной протеиназы, возможно и других ферментов, которые нами не идентифицированы. Отличий в качественном составе белковых фракций желчи в порции В и С не выявлено, но отмечены различия в количественном содержании. В печеночной порции желчи содержание почти всех белков было в 1,5-2 раза ниже, чем в пузырной (за исключением преальбумина, альбумина и орозовукоида). Более часто в печеночной порции желчи обнаруживался Ig A .

2. Состав белков желчи у больных с острым течением вирусных гепатитов.

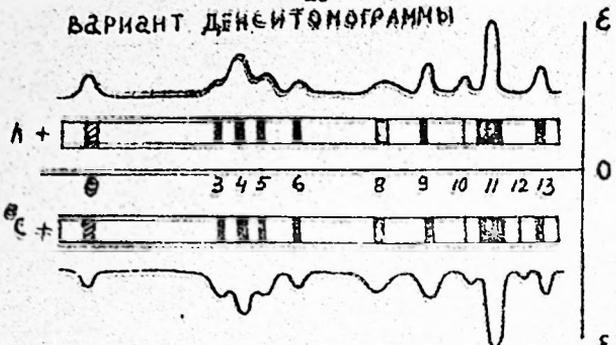
Клинические и лабораторные данные обследованной группы больных с различными формами были типичными, соответствовали общеизвестным данным в отношении острого ВГ, что дало основание считать результаты исследования содержания общего белка и состава белков желчи характерным для этого варианта болезни.

Результаты проведенных исследований показали, что содержание общего белка в пузырной порции желчи при легкой форме острого ВГ снижено на 34% по сравнению с таковым у здоровых людей и составляло $1,94 \pm 0,25$ г/л ($p < 0,001$). В печеночной порции его содержание составляло $1,29 \pm 0,50$ г/л, что практически не отличалось от содержания общего белка в печеночной порции здоровых людей ($1,13 \pm 0,36$ г/л) $p > 0,05$.

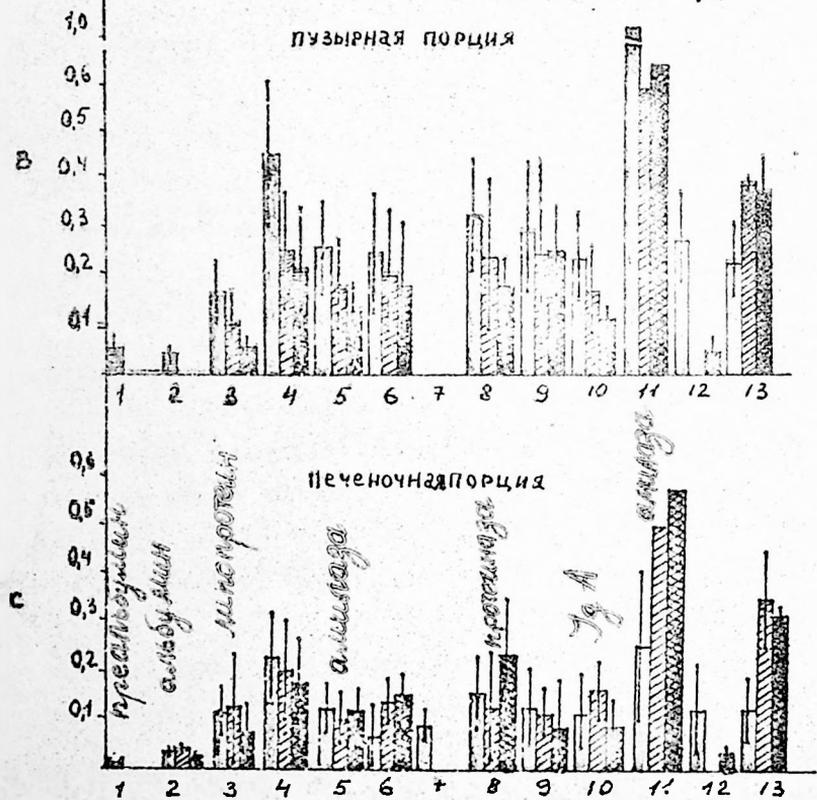
При остром ВГ средней тяжести также наблюдалось снижение общего белка в пузырной порции желчи в среднем до $1,87 \pm 0,37$ г/л ($p < 0,001$); в печеночной порции определялось несколько более повышенное содержание общего белка ($1,40 \pm 0,48$ г/л) по сравнению с данными у здоровых людей $1,13 \pm 0,36$ г/л и больных легкого течения ВГ ($p < 0,05$).

Исследование состава белков желчи показало, зависимость его от

ВАРИАНТ ДЕНСИТОГРАММЫ



СОДЕРЖАНИЕ ФРАКЦИЙ БЕЛКОВ В ЖЕЛЧИ (В) E



ВАРИАНТ ДЕНСИТОГРАММЫ И СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ ПРИ ОСТРОМ ТЕЧЕНИИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА. А - легкая форма, С - средней тяжести
 □ - здоровые, ▨ - легкая форма, ▩ - средней тяжести

формы болезни. У больных с циклическим течением острого ВГ легкой формы в пузырной порции желчи, по сравнению с показателями у здоровых людей, содержание отдельных фракций белка снижалось в зонах α_1 -липопротеина, ингибитора протеиназ (на 28%) и всех трех фракций α -амилазы (в среднем на 33%), повышалось в зоне I3 белковой фракции (на 37%), не выявлялись фракции преальбумина, альбумина с орозомукоидом, 7 и I2 белковые фракции. У больных с формой средней тяжести, помимо изменений, обнаруживаемых при легкой форме ВГ, отмечено снижение содержания белка в зонах нейтральной протеиназы (на 45%), I₂A (на 57%), I2 белковой фракции (на 37%), первой и второй фракции α -амилазы соответственно (на 40 и 51%). Изменения состава белков в печеночной порции желчи при остром циклическом течении ВГ оказались не всегда тождественными изменениям в пузырной порции желчи. В печеночной порции желчи так же, как и в пузырной, не выявлялись фракции преальбумина, 7 и I2 белковые фракции, но обнаруживалось увеличение 6 фракции (на 41,2%) и I3 белковой фракции (на 73%). Активность первой и второй фракций α -амилазы уменьшалась в среднем на 39% при незначительном увеличении третьей фракции α -амилазы.

У больных ВГ с формой средней тяжести, в отличие от легкой, в печеночной порции более выражено снижалось содержание белка в зонах альбумина с орозомукоидом (на 55%), α_1 -липопротеина и ингибитора протеиназ (на 52%), двух фракций амилазы (в среднем на 43%), иммуноглобулина А (на 45,7%) и I2 белковой фракции (на 43,7%). Отмечено еще большее увеличение 6 фракции (на 85,3%). Содержание белка в зонах нейтральной протеиназы и третьей фракции α -амилазы также имело тенденцию к нарастанию.

При анализе причин уменьшения содержания общего белка и фрак-

ионного состава в желчи следует сопоставить полученные данные о обмене белками с известными взглядами на патофизиологию белкового обмена.

Большинство исследователей считает, что в результате нарушения белковосинтезирующей функции печени при ВГ и заболеваниях печени в крови уменьшается содержание общего белка, альбумина и других его фракций (А.Ф.Блюгер с соавт., 1973; Л.Л.Громашевская, 1983; Лаптева Н.И., 1970; Т.Ф.Цирогова, 1975). Существует мнение, что имеется прямая корреляция между активностью синтеза белка в гепатоцитах и фильтрацией его через мембраны желчевыводящих путей (Л.В.Крскова, 1968; А.И.Иванов с соавт., 1977; Н.С.Циммерман с соавт., 1980). Анализируя наши данные о содержании общего белка и состава белков желчи, можно прийти к заключению, что при остром ВГ наблюдаются как нарушение белковосинтезирующей функции печени, так, по-видимому, и экскреции белка в желчь. Обнаруженные изменения в зоне β_2 А могут свидетельствовать об определенных иммунологических сдвиггах и степени напряженности местных защитных механизмов. Выявленное нами снижение фракции в зоне

β_2 А при остром течении ВГ наблюдается, по данным Н.С.Циммермана с соавторами (1980), и при хроническом персистирующем гепатите, и циррозе печени. Изменения в содержании фракций α - амилазы в желчи больных с острым течением ВГ можно объяснить двояко. С одной стороны - поражением поджелудочной железы при вирусном гепатите, что согласуется с результатами других исследователей, с другой стороны - механизмом ферментативного стабирирования гидролаз в периферической крови (Г.Ф.Коротько с соавт., 1980). Не исключается возможность сочетания этих двух механизмов, влияющих на содержание фракций α - амилазы в желчи больных вирусным гепатитом.

3. Состав белков желчи у больных с затяжным течением вирусных гепатитов.

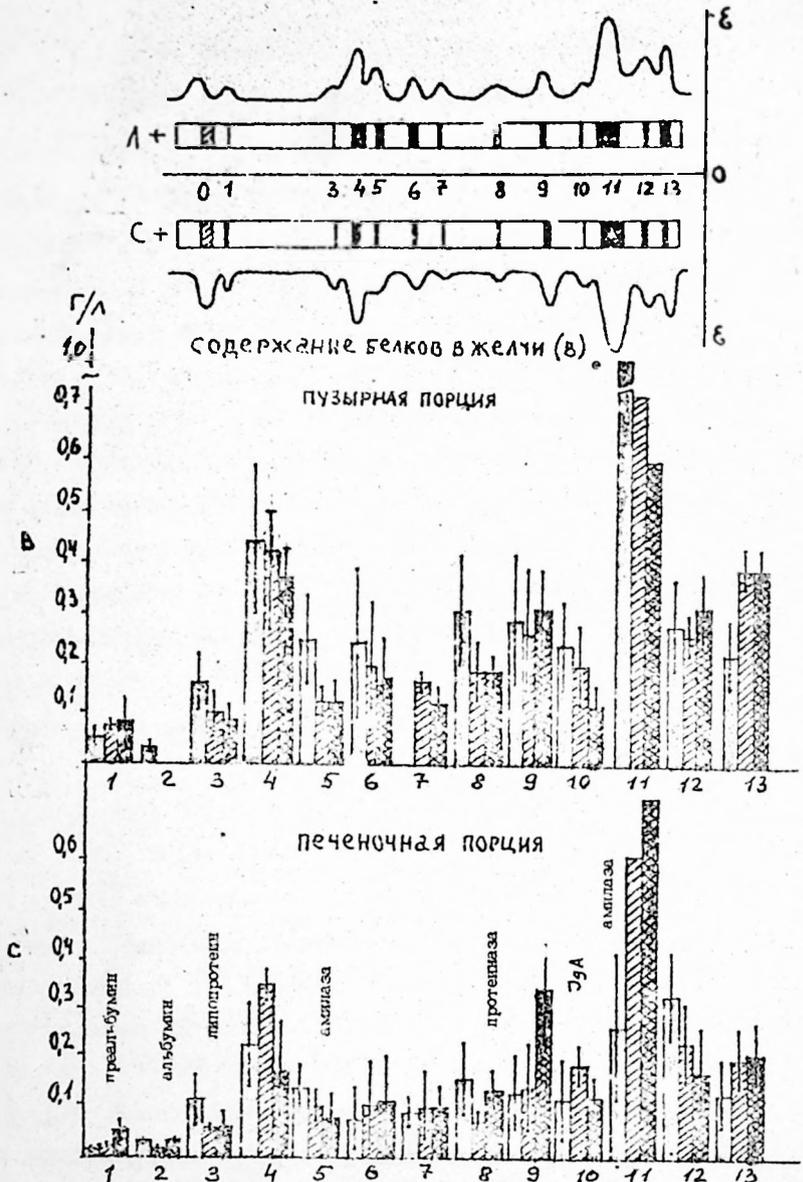
Особенностью данной группы больных является более длительная нормализация биохимических показателей сыворотки крови. У 50% больных сроки нормализации показателей содержания билирубина и у 77,8% - активности АЛТ превысили более 60 дней, в первую очередь это касалось больных ВГ В. Тимоловая проба нормализовалась позднее, чем активность АЛТ.

Анализ данных о содержании общего белка и его фракционного состава в желчи при затяжном течении ВГ показал, что в пузырной порции желчи при легкой форме болезни содержание общего белка снижено до $1,92 \pm 0,22$ г/л, ($p < 0,025$) по сравнению с показателями у здоровых людей; при среднетяжелой форме затяжного течения ВГ до $1,55 \pm 0,23$ г/л, $p < 0,001$. Наблюдаемые некоторые различия в содержании общего белка в пузырной порции желчи у больных с затяжным течением ВГ с различной тяжестью болезни статистически недостоверны ($p > 0,05$).

В печеночной порции желчи содержание общего белка у больных с затяжным течением ВГ при легкой и среднетяжелой формах не отличались от содержания общего белка у здоровых людей ($1,48 \pm 0,53$ г/л, $p > 0,05$). При сравнении показателей содержания общего белка в желчи больных острым и затяжным течением ВГ, различий в печеночной порции желчи не выявлено ($p > 0,05$). Различие между острым и затяжным течением ВГ наблюдалось только в содержании общего белка в пузырной порции желчи при среднетяжелой форме болезни ($p < 0,01$).

Проведенные исследования показали отличия фракционного состава белков у больных острым циклическим и затяжным течением ВГ. У больных с затяжным течением ВГ в пузырной порции желчи определялось повышенное содержание белка в зоне преальбумина (в среднем на 63,5%), неидентифицированной 9 фракции (на 29%), появление 7 и 12

- 14 -
ВАРИАНТ ДЕНСИТОГРАММЫ



ВАРИАНТ ДЕНСИТОГРАММЫ И СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ ПРИ ЗАТЯЖОМ ТЕЧЕНИИ
ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА - А - ЛЕГКАЯ ФОРМА, С - СРЕДНЕЙ ТЯЖЕСТИ
□ - ЗДОРОВЫЕ, ▨ - ЛЕГКАЯ ФОРМА, ▩ - СРЕДНЕЙ ТЯЖЕСТИ

фракции, а также сниженные фракции в зоне J_3 А. В печеночной порции желчи больных с затяжным течением болезни, кроме вышерассмотренных изменений, выявлено, повышенное содержание второй и третьей фракции α - амилазы.

В последние годы появились работы Н.М.Синицкой с соавт. (1978, 1984), исследовавшей белковые фракции у больных, перенесших ВГ. Ею обнаружены изменения в виде увеличения белка в престаартовой и центральных зонах, снижения альбумином, появления фракции, не встречающейся в норме с преимущественной локализацией в преальбуминовой зоне. Эти изменения еще более выражены при хронических гепатитах и циррозах печени. Следовательно, установленные в нашей работе изменения в составе белков желчи при затяжном течении ВГ и изменения белкового спектра при хронических гепатитах (по данным Н.М.Синицкой) имеют значительное сходство. Это дает основание полагать, что выявленные нами изменения в белковом спектре у больных с затяжным течением вирусных гепатитов необходимо оценивать как возможный вариант начинающейся хронизации процесса и как критерий перехода острого течения в затяжное. Представленные выше данные характеризовали содержание общего белка и его состава в желчи больных неосложненным ВГ. Однако, проведенный анализ выявил среди них лиц, у которых была клиника сопутствующего холецистита. У этих больных обнаружено повышенное содержание общего белка за счет фракций преальбумина, альбумина с орозомукоидом, первой фракции α - амилазы и фракций в зоне J_3 А. Разнонаправленность результатов, полученных при неосложненном течении ВГ и гепатите с сопутствующим холециститом, нуждалась в достоверных подтверждениях.

4. Состав белков желчи у больных с низким содержанием холато-холестеринового коэффициента.

Для подтверждения того, что закономерности изменений в белковом составе желчи, обнаруженные у больных ВГ с сопутствующим холециститом связаны с поражением желчевыводящих путей, проведены сопо-

ставления данных с учетом холато-холестеринового коэффициента, так как этот показатель является одним из наиболее достоверных тестов поражения желчевыводящих путей (Я.Л.Грошевская с соавт., 1984; В.П.Мирошниченко, 1979). Группа больных с низким ХХК состояла из 26 человек, что составило 20,9% от всех обследованных. Подробный анализ, проведенный для выявления данных за холецистит в этой группе, показал, что у 15% больных с острым течением и у 30% больных с затяжным течением ВГ отмечались боли в правом подреберье, периодически горечь во рту, локальная болезненность в эпигастриальной области и правом подреберье. У 2 больных выявлялся длительный субфебрилитет. Микроскопическое исследование желчи обнаружило изменения только у 1/3 больных. Рентгенологически у 2 больных выявлен перегиб желчного пузыря.

У больных ВГ с низким ХХК желчи содержание общего белка в пузырьной порции желчи было достоверно выше ($2,37 \pm 0,31$), чем у больных с нормальными показателями ХХК ($1,78 \pm 0,37$, $p < 0,05$). У больных ВГ с низкими показателями ХХК выявлено увеличение фракций в зонах преальбумина (в 2,4 раза), альбумина и орозомукоида (в 8,5 раз), $J_g A$ (в 2,6 раз), появление 7 фракции, отсутствие изменений 12 и 13 фракции, выраженное уменьшение фракции в зонах α -амилазы (в среднем на 27%), нейтральной протеиназы (на 49%) и незначительное уменьшение 6 и 9 фракции. В группе больных ВГ с подтвержденным клинически диагнозом холецистита выявлены весьма сходные изменения - увеличение содержания фракций в зонах преальбумина (на 77%), альбумина и орозомукоида (на 75%), $J_g A$ (на 27%), некоторое увеличение первой фракции α -амилазы (на 24%), появление 7 неидентифицированной фракции. Изменения в содержании белковых фракций в печеночной порции желчи соответствовали изменениям в пузырьной.

Таким образом, у больных ВГ с воспалительными изменениями в желчевыводящих путях выявлены существенные изменения в содержании белковых фракций желчи.

Для воспалительного поражения желчных путей характерно увеличение концентрации общего белка и его фракций в зонах преальбумина, альбумина с орозомикулоидом, γ А, первой фракции α - амилазы, появление неидентифицированной 7 фракции. Увеличение содержания белка в зонах преальбумина и альбумина при холециститах и желчнокаменной болезни обнаружено рядом исследователей (В.А.Галкин с соавт., 1975; А.Ф.Гарифдзанова, 1983; Ф.Я.Ковш с соавт., 1971, 1973, Я.С.Циммерман с соавт., 1980). Повышенное содержание низкомолекулярных белков в желчи объясняется, с одной стороны, нарушением проницаемости стенки кровеносных сосудов в месте воспаления желчевыводящих путей и выходом белков, с другой стороны, нарушением способности слизистой оболочки желчного пузыря впитывать эти белки. Выявленное повышение γ А совпадает с данными, полученными при ряде заболеваний. О повышении содержания γ А свидетельствуют работы, опубликованные в последние годы (Е.А.Вагнер и соавт., 1984; Г.В.Римарчук с соавт., 1984). Считается, что изменение уровня содержания γ А в желчи и дуоденальном секрете могут служить критериями тяжести поражения желчного пузыря и поджелудочной железы. На наш взгляд, и согласно данным литературы (С.В.Билецкий с соавт., 1983; Р.П.Макошь с соавт., 1983; Wienenstock et al., 1983), повышение содержания γ А при поражении желчевыводящих путей объясняется миграцией этого белка в зону воспалительного процесса и напряженностью местных защитных механизмов слизистой барьера желчевыводящих путей. Обнаруженные изменения в содержании белков с ферментативной активностью α - амилазы находят свое подтверждение в работах других исследователей (К.С.Еитникова с соавт., 1975; К.С.Кочарон, 1972; А.А.Мовчун с соавт.; 1980; Л.А.Савельева с соавт., 1982; Bartelheimer et al., 1955). Изменения в содержании фракций α - амилазы у больных ВГ с воспалением в желчевыводящих путях можно объяснить

цей функции. Таким образом, диск-электрофорез белков желчи отражает даже незначительные изменения не только в печени, но и в поджелудочной железе.

5. Влияние гормональной терапии на состав белков желчи больных вирусными гепатитами.

Группу леченных кортикостероидами составили, в основном, больные с тяжелым течением ВГ - 26 человек и средней тяжести - 2. Длительность применения терапии кортикостероидами колебалась от двух до пяти недель. Начальная суточная доза составила от 30 до 60 мг. Лечение проводилось со снижением дозы на 5 мг, каждые 3-5 дней. Отличительными признаками указанной группы являлись выраженность и длительность интоксикации (до 20 дней), выраженность желтухи и медленная нормализация биохимических показателей крови 2 месяца и более.

Количество общего белка в желчи у больных ВГ после курса лечения кортикостероидами находилось в пределах определяемых у здоровых людей ($2,59 \pm 0,49$ в порции В и $1,65 \pm 0,77$ г/л в порции С). Однако, по сравнению с больными ВГ, не получавших кортикостероиды, оно было повышено. Анализ содержания белковых фракций в желчи больных ВГ, получавших гормональную терапию, показал, что содержание преальбумина и альбумина в пузырной желчи по сравнению со здоровыми людьми и больными ВГ, не получавших кортикостероиды, повышено. В пузырной порции желчи у больных, получавших гормональную терапию, появлялась фракция 7, содержание 6, 12 и 13 фракций повышалось. В печеночной порции желчи выявлены аналогичные изменения.

Интересно отметить, что частота обнаружения отдельных белковых фракций также увеличивалась. В частности, альбумин как в пузырной, так и в печеночной порциях желчи выявлен у всех больных, получав-

ших котрикостероиды; Γ_2 А обнаруживался у 89-100% больных в то время, как у больных ВГ, находившихся на базисной терапии - у 50-60% обследованных. Количественное же содержание данного белка не превышало нормы. Восьмая фракция, идентифицированная как нейтральная протеиназа, выявлялась в среднем у 30% больных (у здоровых людей у 52,2%); содержание этой фракции достоверно ниже, чем у здоровых людей и больных ВГ ($p < 0,01$). В печеночной порции желчи, как и в пузырной, прослеживалась та же тенденция.

Таким образом, под влиянием кортикостероидной терапии повышалось содержание в желчи преальбумина, альбумина, изменялось содержание 6, 7, 12 и 13 фракций белков. Гормональная терапия не оказывала особого влияния на фракции α -амилазы, но частота обнаружения и содержание нейтральной протеиназы снижались.

6. Состав белков желчи у больных с хроническими заболеваниями желчных путей.

Необходимость обследования больных заболеваниями желчных путей возникла в связи с выявленной нами в ходе исследований определенной зависимости между содержанием общего белка и состава белков желчи и величиной ХХК у больных ВГ. Четкие клинические проявления и гистологическое подтверждение диагноза холецистита при хирургических заболеваниях желчных путей, в отличие от ВГ, дают возможность с большим основанием судить о зависимости изучаемых показателей от наличия или отсутствия воспалительного процесса в желчном пузыре. Степень поражения оценивалась на основании патоморфологических изменений в желчном пузыре.

У больных с хроническими заболеваниями желчных путей, у которых не наблюдалось биохимических нарушений функции печени и воспалительных изменений в желчном пузыре, содержание общего белка в желчи не отличалось от данного показателя у здоровых людей.

($p > 0,05$). При наличии воспалительных изменений в желчном пузыре обнаруживалось высокое содержание общего белка в желчи, $5,75 \pm 1,34$ г/л, что значительно превышало концентрацию белка в желчи здоровых людей. В составе белков желчи у больных с воспалительным поражением желчного пузыря выявлено выраженное увеличение фракций в зонах преальбумина ($0,68 \pm 0,31$ г/л), альбумина ($3,31 \pm 1,79$ г/л) и α_1 -липопротеина ($1,24 \pm 0,57$ г/л). Наиболее высоким было содержание альбуминовой фракции, показатели которой превышали содержание этой фракции у здоровых людей почти в 15 раз. Содержание альбумина находилось в зависимости от степени поражения желчного пузыря. При отсутствии воспалительного поражения желчного пузыря отмечено увеличение этих же фракций, но на долю альбумина приходилось всего 20% содержания альбумина у больных с наличием воспалительного процесса. Анализ содержания белковых фракций в желчи у больных этой группы выявил высокую концентрацию 6,7,13 фракций и γ А у больных с воспалительным поражением желчного пузыря.

Таким образом, содержание общего белка и состав белков желчи у больных хроническими заболеваниями желчных путей с наличием воспаления в желчном пузыре отличается от состава белков желчи больных без воспалительных изменений в желчных путях. Для воспалительного поражения желчевыводящих путей характерно повышенное содержание общего белка за счет белковых фракций: преальбумина, альбумина с сродомукоидом, 6,7,13 фракций и γ А. Аналогичные данные получены нами у больных вирусными гепатитами с сопутствующими холециститом.

Следовательно, данные о содержании общего белка и составе белков желчи отражают поражение желчных путей и могут явиться лабораторным критерием для выявления этой патологии.

В Ы В О Д Ы :

1. Острое гладкое течение вирусного гепатита характеризуется снижением в пузырной желчи общего белка и белковых фракций в зонах

А₁ - липопротеина и ингибитора протриназ, активности всех фракций А - амилазы, отсутствием фракций преальбумина, альбумина с бромомукоидом и 12 фракции. Степень изменения зависит от тяжести болезни.

2. Затяжное неосложненное течение вирусного гепатита отличается от острого гладкого течения 3Г увеличением содержания фракций в зонах преальбумина, 9 фракции, появлением 7 и 12 фракций, снижением фракции в зоне J_g A в пузырной желчи и увеличением активности второй и третьей фракций А - амилазы в печеночной порции желчи.

3. В отличие от гладкого течения болезни для вирусного гепатита, осложненного воспалительным поражением желчевыводящих путей, характерно увеличение концентрации общего белка и белковых фракций в зонах преальбумина, альбумина с бромомукоидом, J_g A, активности первой фракции А - амилазы, появлением 7 неидентифицированной фракции.

4. Гормональная терапия оказывает существенное влияние на состав белков желчи, заключающееся в повышении, по сравнению с показателями до лечения и в сравнении с таковыми у больных, не получивших кортикостероиды, содержания общего белка, фракций альбумина, преальбумина, нейтральной протеиназы, 6, 12 и 13 фракций: Активность

А - амилазы при этом не изменяется. После гормональной терапии в желчи выявляется не определяемая до лечения 7 фракция.

5. У здоровых людей содержание всех фракций белков (за исключением первых двух) в 1,5-2 раза выше в пузырной порции желчи по сравнению с печеночной. Среди белковых фракций, преобладают белки с ферментативной активностью А - амилазы и нейтральной протеиназы,

главным образом α - амлази.

6. Разработана модификация фотометрического метода количественного определения общего белка в желчи, позволяющая исключить влияние на него билирубина. Метод отвечает современным требованиям точности и может быть использован в биохимической лаборатории практического здравоохранения.

7. Внедрение разработанного метода определения общего белка и метода диск-электрофореза в полиакриламидном геле позволит улучшить диагностику воспалительных поражений желчевыводящих путей у больных вирусным гепатитом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Белок желчи при различных формах вирусного гепатита. - В кн.: Новое в лабораторной диагностике хронических болезней внутренних органов. III съезд республиканского общества врачей-лаборантов. Ужгород, 1983, с. 177 (соавт. В.П.Мирошниченко, Р.С.Лисенко).

2. Белки желчи при различных заболеваниях гепатобилиарной системы. - В кн.: VI Всесоюзная конференция по клинической биохимии, морфологии и иммунологии инфекционных болезней. Рига, 1983, с. 498-499 (соавт. В.П.Мирошниченко).

3. К вопросу об идентификации белков дуоденального содержимого. - В кн.: Актуальные вопросы диагностики и терапии заболеваний желудка, печени и желчевыводящих путей. Москва, 1984, с. 44-45 (соавт. Т.М.Вишневецкая, А.А.Михеев, А.А.Коншин, Л.А.Сорокина).

4. Определение общего белка в желчи. - Методические рекомендации по проведению биохимических исследований у больных, перенесших вирусный гепатит при реабилитации их на курортах. Киев, 1984, с. 10-11 (соавт. Л.Л.Громашевская, А.Д.Вовк и др.).

Б. Определение белковых фракций желчи в ПЛАГ. — Биохимические методы диагностики вирусного гепатита и других поражений гепатобилиарной системы, перехода острого гепатита в хроническую форму (Методические рекомендации). Киев, 1985, с. 16-20 (сост. Л.Л.Громашевская, Б.Л.Угрюмов и др.).