

На правах рукописи

НОВИЦКАЯ

Татьяна Васильевна

**РОЛЬ НАРУШЕНИЙ СФИНГОМИЕЛИНОВОГО ЦИКЛА В
МЕХАНИЗМАХ ИММУННОГО ДИСБАЛАНСА И ПОВРЕЖДЕНИЯ
ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОПИСТОРХОЗЕ**

14.00.16 – патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск 2003

Работа выполнена в Сибирском государственном медицинском университете

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Серебров Владимир Юрьевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Дыгай Александр Михайлович

доктор медицинских наук

Рязанцева Наталья Владимировна

Ведущая организация:

НИИ общей патологии и патологической физиологии РАМН (г. Москва)

Защита состоится « ____ » _____ 2003 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 206.096.01 в Сибирском государственном медицинском университете по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно – медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр.Ленина, 107)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2003 г.

Ученый секретарь диссертационного совета:

Бражникова Н.А

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Проблема патогенеза, диагностики, лечения хронического описторхоза и его осложнений остается одной из важных в практической медицине и смежных областях науки. Это связано с широкой распространенностью описторхоза, длительностью течения, многообразным воздействием на организм человека и тяжестью осложнений. Только в нашей стране насчитывается более 12 миллионов человек, пораженных описторхозом [Турьянов М.Х., 1998], и число их, несмотря на меры профилактики и лечения, все еще продолжает расти [Завойкин В.Д., 2001].

Хронический описторхоз вызывает характерные и достаточно хорошо изученные морфологические изменения в желчных протоках [Глумов В.Я., 1981; Пурлик И.П., 2001]. Однако при описторхозе не бывает изолированного поражения желчных путей, в большинстве случаев происходит значительное повреждение клеток печени [Пальцев А.И. и др., 1996]. Даже при бессимптомном течении описторхоза и в резидуальную стадию заболевания выявляются структурные изменения в ткани печени, характерные для вялотекущего гепатита [Лимахина М. А., 1989; Пальцев А.И. и др., 1998]. Известно, что длительная описторхозная инвазия нередко вызывает бластоматозную трансформацию клеток печени и желчевыводящих протоков. Так, в ряде работ была выявлена взаимосвязь между распространением трематодных инвазий *Opisthorchis felinus* и *Opisthorchis viverrini* и повышенной частотой злокачественных новообразований печени [Таранов С.В., 1979; Flavell D., 1991; Srivatanakul P., 1991; Parkin D.M., 1993; Bronstein A.M., 1995; Шмурман Р.И., 1998]. Кроме того, в предложенном ВОЗ списке канцерогенных факторов, способствующих развитию холангиогенного рака печени, одно из ведущих мест занимает хроническая инвазия *Opisthorchis viverrini* [The world health report, 1997]. Ранние признаки рака органов гепатобилиарной зоны маскируются клиническими симптомами обострения описторхоза [Бражникова Н.А., 2001], что обуславливает позднее выявление злокачественного процесса и трудность осуществления радикальных хирургических операций [Альперович Б.И., 1990; Бражникова Н.А., 2001; Хабас Г.Н., 2001].

Значительная часть работ, посвященных исследованию описторхоза, сосредоточена в области изучения эпидемиологии заболевания [Сидоров Е.Г., 1983; Parkin D.M., 1993; Tsuda H., 1994; Завойкин В.Д. и др., 2001], особенностей биологии гельминта [Ильинских Н.Н., 1995; Котелкин А.Т., 1999; Arinhasmit W., 2001; Sripa B., 2001], характера морфологических изменений в органах локализации паразитов [Зубов Н.А., 1979; Глумов В.Я., 1981; Гинковер А.Г., 1987; Истомина О.Ю., 1995; Пальцев А.И., 1998; Коваленко Ф.П. и др., 2001], возможностей диагностики [Батанина И.А. и др., 2000; Толкаева М.В., 2001; Ткаченко Т.Н. и др., 2001], тактики лечебных мероприятий описторхоза [Белобородова Э.И., 1996; Лепехин А.В., 1998; Бужак О.Н., 2001] и его осложнений [Альперович Б.И., 1996; Сало В.Н., 1999; Мерзликин Н.В., 2001; Хабас Г.Н., 2001], воздействия на организм описторхозной инвазии, сочетающейся с другими инфекционными [Бронштейн А.М., 1997; Лепехин А.В., 1997; Кудашева С.В. и др., 2001; Помогаева А.П., 2001] и неинфекционными [Белялова И.Г. и др., 2000; Черногорюк Г.Э., 2000; Иванова О.И. и др., 2001;

Евдокимова Т.А., 2001] заболеваниями, изменений иммунологической реактивности организма - хозяина [Комиссаренко В.Г., 1979; Климова С.К., 1987; Савин В.Л., 1987; Суховой Ю.Г., 1992; Кальгина Г.А., 1994; Бужак Н.С. и др., 1995; Карбышева Н.В., 2001]. В меньшей степени изучены молекулярные механизмы повреждения клеток, лежащие в основе хронизации описторхоза, а также в развитии его осложнений, самым тяжелым из которых является рак печени. Вместе с тем исследование метаболизма различных молекул, осуществляющих поддержание функционирования клеток печени и иммунной системы, может дать ценную информацию о механизмах формирования хронического описторхоза и его осложнений.

Значительный интерес представляет изучение метаболизма сфинголипидов, которые являются вторичными мессенджерами [Liscovitch M., 1994; Spiegel S., 1996; Дятловицкая Э.В., 1998], участвующими в процессах регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток [Wolff R.A., 1995; Nakomori S., 1997; Kolesnick R., 1999; Levade T., 1999; Spiegel S., 1999; Алесенко А.В., 2001; Hannun Y.A., 2002]. Поскольку участие сфинголипидов во всех этих процессах было выявлено в последние десятилетия и работа по уточнению некоторых механизмов еще ведется, сведения об изменениях, происходящих в функционировании сфингомиелинового цикла при различных заболеваниях крайне малочисленны. При этом изучение функционирования сфингомиелинового цикла, может дать ценную информацию о его участии в генезе различных патологических состояний.

В связи с широким распространением описторхоза среди населения в эндемичных областях, частотой хронизации процесса, недостаточностью профилактических и лечебных мероприятий, высоким риском бластоматозной трансформации органов локализации гельминтов представляется важным изучение внутриклеточных механизмов, обуславливающих дисфункцию иммуноцитов и гепатоцитов, участвующих в формировании патологического процесса. Полученные данные могут служить фундаментальной основой для развития новых подходов к профилактике и лечению хронического описторхоза и его осложнений.

Цель работы:

Установить роль нарушений сфингомиелинового цикла в механизмах иммунного дисбаланса и повреждения печени при хроническом описторхозе.

Задачи исследования:

1. Исследовать показатели иммунной системы у больных хроническим описторхозом и у пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, ассоциированными с хроническим описторхозом.
2. Установить общие закономерности и особенности функционирования сфингомиелинового цикла (активность сфингомиелиназы, церамидазы, содержание сфингомиелина, церамида) в лимфоцитах крови у больных хроническим описторхозом и у пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, сочетающимися с хроническим описторхозом.
3. Исследовать механизмы, участвующие в регуляции активности сфингомиелинового цикла (интенсивность фосфолиполиза и процесса перекисного окисления липидов) в лимфоцитах крови у больных хроническим описторхозом и у пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, ассоциированными с хроническим описторхозом.

4. В экспериментальной модели хронического описторхоза определить содержание компонентов сфингомиелинового цикла и модуляторов данного метаболического пути в ткани печени.

Научная новизна. Впервые изучена роль нарушений сфингомиелинового цикла в механизмах иммунного дисбаланса у больных хроническим описторхозом и у пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, протекающими на фоне хронического описторхоза. Выявлена взаимосвязь между нарушением содержания компонентов сфингомиелинового цикла и интенсивностью процессов фосфолиполиза и перекисного окисления липидов. Впервые показано, что при хронической описторхозной инвазии в эксперименте происходят изменения функционирования сфингомиелинового цикла в клетках печени.

Теоретическая и практическая значимость. Настоящая работа вносит вклад в развитие фундаментальных представлений о патогенезе хронического описторхоза и злокачественных новообразований гепатобилиарной системы, ассоциированных с хроническим описторхозом. Результаты работы расширяют представления о роли основных компонентов сфингомиелинового цикла в развитии иммунного дисбаланса и поражения ткани печени при хроническом описторхозе.

Основные положения работы могут быть использованы в качестве теоретической основы для прогнозирования исходов хронического описторхоза, а также для проведения прикладных исследований в области создания новых фармакологических средств, влияющих на сфингомиелиновый цикл.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хронический описторхоз сопровождается дисбалансом иммунной системы. При хроническом описторхозе изменен иммунофенотипический профиль лимфоцитов (снижено содержание CD3, CD4 и увеличено количество CD8-лимфоцитов), уменьшена функциональная активность лимфоцитов. При злокачественных новообразованиях гепатобилиарной системы, ассоциированных с хроническим описторхозом, изменения иммунологических показателей имеют однонаправленный характер, но более значимую степень выраженности.

2. Иммунный дисбаланс у больных хроническим описторхозом и у пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, ассоциированными с хроническим описторхозом, сочетается с нарушением функционирования сфингомиелинового цикла в лимфоцитах крови. Накопление церамида является следствием увеличения его образования из сфингомиелина при активации сфингомиелиназы, связанной с увеличением интенсивности фосфолиполиза, и ингибирования его гидролиза при снижении активности церамидазы.

3. Моделирование хронической описторхозной инвазии сопровождается дисфункцией сфингомиелинового цикла в ткани печени, что приводит к накоплению сфингомиелина и уменьшению количества церамида. Механизмы такого нарушения метаболического пути сфингомиелина связаны с ингибированием активности ключевых энзимов – сфингомиелиназы, происходящем вследствие увеличения содержания лизофосфолипидов, и церамидазы.

Реализация и апробация работы. Основные результаты представлены на научных семинарах кафедры патологической физиологии СибГМУ и кафедры биохимии и молекулярной биологии СибГМУ, региональных и российских конференциях: Втором конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2001), Третьем конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2002); Четвертом конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2003); Международной юбилейной конференции «Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии» (Томск 2001); II – ой Российской конференции молодых ученых России с международным участием «Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины» (Москва 2001); 5th Korea – Russia International Symposium on Science and Technology (June 26 – July 3, 2001, Tomsk, Russia).

Публикации. По материалам диссертации опубликована 21 работа, 2 из них в центральных рецензируемых журналах.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 160 страницах, иллюстрирована 27 таблицами и 23 рисунками. Библиография включает 205 литературных источников, из которых 132 отечественных и 73 иностранных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При выполнении работы было обследовано 148 человек, из них 30 практически здоровых лиц и 118 пациентов с заболеваниями гепатобилиарной зоны. Характеристика обследованных представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика клинического материала

Группы	Количество обследованных			Средний возраст обследованных, лет
	всего	муж	жен	
Здоровые доноры	30	17	13	45±2 (24-64)
Больные хроническими заболеваниями органов гепатобилиарной зоны без описторхоза	37	12	25	50±2 (32-78)
Больные хроническим описторхозом	57	26	31	52±2 (28-74)
Больные злокачественными новообразованиями гепатобилиарной зоны на фоне хронического описторхоза	24	14	10	63±2 (44-79)

Группу лиц с хроническими заболеваниями органов гепатобилиарной зоны (ГБЗ) составили больные с диагнозом: хронический холецистит – 13 человек (35%), хронический холангиохолецистит – 24 человека (65%). У 29 больных (80%) был выявлен холелитиаз. 12 человек находились в стадии обострения, 25

– в стадии ремиссии заболевания. В острой фазе больные обследованы на 2-ой день поступления в клинику, критерием обострения являлось нарастание клинической симптоматики с астеновегетативным синдромом, выраженным диспептическим синдромом, нарушением в сыворотке крови параметров, характеризующих пигментную, белковую, ферментную стороны метаболизма печени. Больным, находящимся в стадии обострения заболевания, была проведена симптоматическая терапия стандартным способом (ограничение питания, спазмолитики, обезболивающие, ферментные препараты). У больных данной группы (далее: группа больных хроническим неописторхозным холангиохолециститом) при дуоденальном зондировании и копрологическом исследовании яиц описторхисов обнаружено не было, серологические анализы, проведенные у 14 больных, показали отсутствие специфических антител, в анамнезе диагноз: «описторхоз» отсутствовал.

У больных хроническим описторхозом заболевание имело давность более 10 лет. За этот период большинство больных проходило курсы дегельминтизации. В момент обследования наличие яиц гельминтов подтверждено результатами дуоденального зондирования и/или копрологического исследования, у 19 человек проведены серологические исследования и получены положительные данные о наличии специфических антител. Вирусное поражение печени было исключено данными анамнеза и отрицательными результатами серологического исследования. У 11 больных данной группы (20%) формой течения хронической стадии описторхоза был хронический холецистит, у 37 больных (65%) – хронический холангиохолецистит, у 9 человек (15%) – хронический гепатохолангиохолецистит. 15 человек находились в стадии обострения заболевания с болевым, диспептическим, астеновегетативным синдромами, 42 человека – в стадии ремиссии, у 38 из которых наблюдались проявления холецистопатии. У 26 больных этой группы выявлен холелитиаз. Исследование проводилось на 2-ой день после поступления пациента в клинику, 15 больным была проведена терапия с использованием спазмолитиков, желчегонных и ферментных препаратов.

У онкологических больных тип рака устанавливался при исследовании биопсийного материала. У 10 человек был диагностирован холангиоцеллюлярный рак, у 14 человек – гепатоцеллюлярный. Диагноз рака ставился на основании классификации TNM [Руководство по стадированию рака, 1997]. У 13 человек – T4N1M1, у 11 – T4N0M1. У всех пациентов этой группы заболевание протекало с выраженными астеновегетативным, болевым, диспептическим синдромами, изменением лабораторных показателей, характеризующих функциональное состояние печени (активности аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гамма-глутаминтранспептидазы, проб коллоидоустойчивости, содержания билирубина), у 18 пациентов (75%) этой группы была выявлена желтуха. В исследование были включены пациенты, получавшие только симптоматическую лекарственную терапию. Хронический описторхоз у пациентов данной группы верифицировался на основании данных анамнеза, положительных результатов серологического и копрологического исследований. Вирусное поражение печени было исключено данными анамнеза и отрицательными результатами серологического исследования.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых человек.

Больные находились на стационарном лечении в клиниках СибГМУ, а также в гепатологическом центре при Томской городской больнице № 3. Автор выражает благодарность профессору кафедры общей хирургии СибГМУ д.м.н.

Т.Б. Комковой и заведующему кафедрой хирургических болезней педиатрического факультета СибГМУ, профессору д.м.н. Н.В. Мерзликину за помощь в получении клинического материала.

Для исследования использовали венозную кровь. Лимфоциты и нейтрофилы выделяли на градиенте плотности фиколл - верографин [Натвиг Д., 1990].

Вторая часть работы была выполнена с использованием экспериментальной модели хронического описторхоза. Модель воспроизводили на 50 белых беспородных мышах обоего пола. Для инвазирования мышей использовали метацеркариев, выделенных из мышечной ткани язей, отловленных в реке Обь. Рыбу исследовали на зараженность личинками *Opisthorchis felinus* компрессионным методом [Глазков Г.А., 1979]. Метацеркарии выделяли методом пептического переваривания [Баяндина Д.Г., 1985]. Заражение мышей проводили путем введения в глотку животным 5-10 метацеркариев в физиологическом растворе. Хронический описторхоз у животных развивался в течение 6 месяцев [Ильинских Н.Н., 1995]. В качестве контрольной группы использовали 30 интактных мышей. Животные содержались в стандартных условиях вивария. В качестве материала исследования использовали печень животных, которую перед извлечением перфузировали 10% раствором КСI [Гулак П.В., 1985].

1. Иммунологические методы

Количество лимфоцитов субпопуляций CD3, CD4, CD8, CD16, CD72 определяли в лимфоцитотоксическом тесте [Гаджиев К.М., 1991] с использованием моноклональных антител («Сорбент», Москва). Функциональную активность лимфоцитов изучали по их способности трансформироваться в бласты в спонтанной и индуцированной фитогемаглюнином (ФГА) реакции бластной трансформации (РБТЛ) [Фримель А.М., 1993]. Функциональную активность нейтрофилов исследовали по способности этих клеток к фагоцитозу микробной культуры *Staphylococcus aureus* -209 [Меньшиков В.В., 1987] и по количеству лизосом в нейтрофилах [Бережная Н.В., 1984]. Оценивали также концентрации в сыворотке крови иммуноглобулинов А, М, G [Manchini, 1979] и циркулирующих иммунных комплексов [Билынский Б.Т., 1983].

2. Методы определения активности липолитических ферментов и состава липидов

Активность сфингомиелиназы, церамидазы, фосфолипазы A₂ (ФЛА₂), фосфолипазы D (ФЛD) определяли по методу Х. Брокерхофа (1978). Активность сфингомиелиназы и церамидазы определяли по уменьшению концентрации соответствующих субстратов (сфингомиелин и церамид, "Sigma", USA). Активность ФЛА₂ определяли по прибыли лизофосфолипидов. Активность ФЛD определяли по количеству фосфатидной кислоты, выделение и анализ которой проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в двухфазной системе. Содержание сфингомиелина, церамидов, фосфатидилхолина и лизофосфолипидов проводили методом ТСХ. Хроматограммы проявляли с помощью фосфорномолибденовой кислоты и оценивали денситометрически. Для ТСХ использовали пластинки «Silufol UV 254» (Чехия).

3. Методы оценки интенсивности перекисного окисления липидов и активности антиокислительных ферментов

Из показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли содержание малонового диальдегида [Гаврилов В.Б., 1987], диеновых конъюгатов [Гаврилов В.Б., 1983]. Антиоксидантную систему оценивали с

помощью определения активности супероксиддисмутазы адrenoхромовым методом [Брусов О.С., 1976] и каталазы – по убыли перекиси водорода [Королюк М.А., 1988].

4. Статистическая обработка результатов. Определение среднего значения, ошибки среднего значения, достоверности различий между двумя параметрами (по критерию Манна - Уитни) проводилась на IBM совместимом персональном компьютере с использованием пакета статистических программ «STATGRAPHICS». Для определения взаимосвязи изучаемых показателей проводился корреляционный анализ Кендала.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание и функциональная активность лимфоцитов при патологии гепатобилиарной зоны

При исследовании субпопуляционного состава Т-лимфоцитов крови у пациентов с патологией ГБЗ нами выявлено снижение процентного и абсолютного количества Т-лимфоцитов (CD3 клеток) во всех обследованных группах больных при сравнении со значениями контрольной группы (табл.2). При этом содержание CD3 клеток у больных описторхозом было ниже, чем у больных неописторхозным холангиохолециститом (табл.2). Более существенно общее количество Т-лимфоцитов снижалось у пациентов, имеющих рак печени, протекающий на фоне хронического описторхоза, при этом получены достоверные отличия не только при сравнении со здоровыми донорами, но и двумя группами больных (табл.2). Указанные результаты согласуются с данными литературы об изменениях в системе клеточного звена иммунитета у больных описторхозом [Лепехин А.В., 1988; Кальгина Г.А., 1994; Карбышева Н.В., 2001] и у онкологических больных [Рымша М.А., 2002]. При этом авторы [Кальгина Г.А., 1994] полагают, что снижение количества Т-лимфоцитов у больных хроническим описторхозом является фактором, способствующим реализации злокачественной трансформации органов локализации паразитов. Иммунный ответ организма на антигены (описторхозные, опухольассоциированные) осуществляется эффекторными Т-лимфоцитами (CD3) [Бытковская С.Н., 1982]. При хроническом воспалении длительное антигенное раздражение с активацией иммунокомпетентных клеток способно привести к истощению компенсаторного потенциала иммунных механизмов [Соловьев Ю.Н., 1990]. Вызванное таким образом, снижение количества Т – лимфоцитов не может обеспечить адекватного цитотоксического эффекта, что может лежать в основе хронизации процесса и способствовать развитию рака.

Антигенная детерминанта CD4 характеризует субпопуляцию хелперно – индукторных Т-лимфоцитов [Гаджиев К.М., 1991]. По нашим данным, содержание CD4 лимфоцитов в группе больных раком ГБЗ было ниже, чем в остальных обследованных группах. У больных описторхозом были выявлены подобные изменения содержания CD4 клеток, но в меньшей степени выраженности (табл.2). Недостаточное наличие CD4 лимфоцитов свидетельствует о нарушении главного антиген - зависимого механизма активации как клеточного (осуществляемого цитотоксическими Т-лимфоцитами), так и гуморального (выполняемого В-лимфоцитами) звеньев иммунитета [Ярилин А.А., 1999].

Главную роль в осуществлении супрессорного эффекта отводят Т-клеткам, несущим CD8 детерминанту [Гаджиев К.М., 1991]. Относительное количество

CD8 клеток у больных раком ГБЗ было увеличено при сравнении с аналогичным показателем у здоровых доноров, у больных неописторхозным холангиохолециститом и у больных описторхозом на 20%, 29% и 15% соответственно (табл.2). При этом, количество CD8 клеток у больных описторхозом было выше, чем аналогичный показатель у больных с похожим патологическим процессом, но без описторхоза. Рядом авторов показана способность описторхисов выделять иммуносупрессивные вещества [Ильинских Н.Н., 1990], природа которых, однако, не установлена, и вызывать активацию Т-супрессоров [Кальгина Г.А., 1994]. В большинстве работ, посвященных иммунологии злокачественного роста, указывается на увеличение супрессорной активности [Останин А.А., 1996; Кологривова Е.Н., 1999; Рымша М.А., 2002]. Т-супрессоры тормозят включение В-лимфоцитов в дифференцировку, в результате чего задерживается выработка антител различных классов; обеспечивают эффект конкуренции антигенов; тормозят формирование цитотоксических Т-лимфоцитов [Roitt I., 1991].

Таблица 2

Содержание субпопуляций лимфоцитов в крови больных с патологией органов гепатобилиарной зоны в % от общего количества лимфоцитов и в абсолютных значениях ($\bar{X} \pm m$)

Исследованный показатель		Обследованные группы			
		Практически здоровые лица	Больные хроническим неописторхозным холангиохолециститом	Больные хроническим описторхозом	Больные раком печени в сочетании с хроническим описторхозом
CD3	%	65,10±1,49	50,25±3,46*	42,9±1,89*	30,40±1,77* ** ***
	10 ⁹ клеток/л	1,38±0,10	0,81±0,09*	0,56±0,072* **	0,37±0,04* **
CD8	%	13,80±0,72	12,37±0,96	14,85±0,53**	17,40±1,25* **
	10 ⁹ клеток/л	0,28±0,06	0,29±0,02	0,38±0,01* **	0,41±0,02* ** ***
CD4	%	39,11±1,26	38,86±1,14	25,21±1,12* **	16,69±1,36* ** ***
	10 ⁹ клеток/л	0,71±0,09	0,68±0,06	0,47±0,04* **	0,31±0,06* ** ***

Примечание: * - достоверное различие при сравнении с соответствующим показателем группы здоровых доноров (P<0,05); ** - достоверное различие при сравнении с соответствующим показателем группы больных хроническим холангиохолециститом (P<0,05); ***- достоверное различие при сравнении с соответствующим показателем группы больных хроническим описторхозом (P<0,05)

Таким образом, нами показано снижение общего содержания Т-лимфоцитов, выявлен субпопуляционный дисбаланс Т-лимфоцитов с преобладанием CD8 и недостаточностью CD4 клеток.

Для оценки функционального резерва лимфоцитов обычно используют реакцию бластной трансформации – РБТЛ [Фримель А.М., 1993; Roitt I., 1991].

При исследовании функциональной активности лимфоцитов нами выявлено уменьшение этого показателя у больных раком ГБЗ, протекающем на фоне гельминтной инвазии. Уменьшался процент бласттрансформированных

лимфоцитов как в спонтанной реакции, так и при индукции этого процесса с помощью ФГА. При этом получены достоверные различия при сравнении показателей спонтанной и индуцированной РБТЛ не только со здоровыми донорами на 51,6% и 32,7% соответственно, но и при сравнении с обеими группами больных (рис.1).

Интенсивность спонтанной РБТЛ зависит от присутствия антигенов в культуре лимфоцитов крови [Кологрирова Е.Н., 1999]. Увеличенный по сравнению с контрольной группой процент бластных клеток в спонтанной РБТЛ у пациентов с хроническим неописторхозным и описторхозным поражением ГБЗ (рис.1) свидетельствует о мощной антигенной стимуляции иммунной системы в условиях воспалительного процесса. У больных раком печени в сочетании с описторхозом низкий показатель спонтанной РБТЛ (рис.1) свидетельствует, вероятно, не столько о недостаточной антигенной стимуляции, сколько связан с уменьшением активности иммунокомпетентных клеток в условиях развития злокачественного процесса на что указывает ряд авторов [Бабышкина Н.Н., 1999; Кологрирова Е.Н., 1999].

Фитогемагглютинин вызывает поликлональную активацию Т-клеточного звена в РБТЛ, поэтому в данной реакции определяют потенциал функционального резерва Т-лимфоцитов [Новиков А.К., 1989]. Нами отмечено снижение функциональной активности лимфоцитов в РБТЛ с ФГА у пациентов с хроническим описторхозом и значительное угнетение при злокачественных новообразованиях, протекающих на его фоне (рис.1). У больных неописторхозным холангиохолециститом РБТЛ с ФГА показала увеличенный процент бластной трансформации (рис.1), что свидетельствует о достаточной способности к активации Т-лимфоцитов. Полученные данные РБТЛ у больных описторхозом и у пациентов, имеющих рак (рис.1), свидетельствуют об истощении функционального резерва Т-лимфоцитов, и, как следствие, о недостаточности их эффекторной способности.

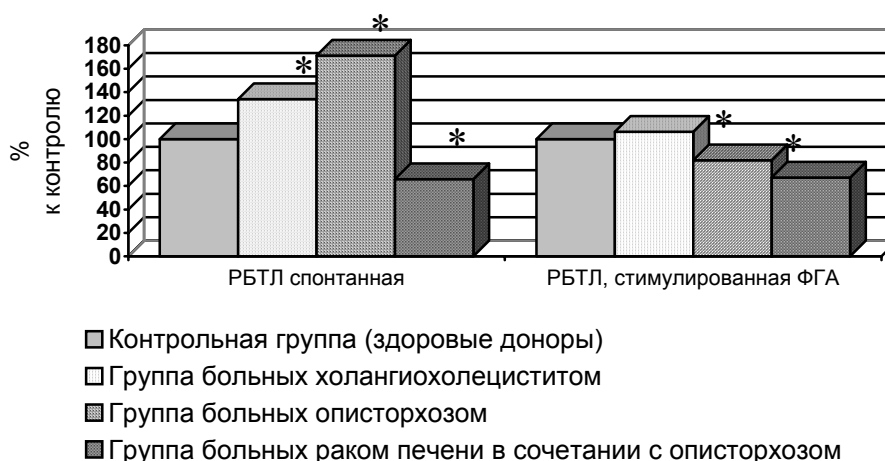


Рис. 1. Функциональная активность лимфоцитов в реакции бластной трансформации у пациентов с заболеваниями органов гепатобилиарной зоны, в % к контролю

Примечание: РБТЛ - реакция бласттрансформации лимфоцитов, ФГА – фитогемагглютинин; здесь и на рис.2 – 4 * - достоверное различие при сравнении с соответствующим показателем группы здоровых доноров ($P < 0,05$)

Таким образом, нами продемонстрировано снижение показателей клеточного звена иммунитета в обследованных группах больных. При этом выявленные изменения у больных хроническим описторхозом и у пациентов, имеющих рак ГБЗ, ассоциированный с описторхозом, носили однонаправленный характер. Наиболее выраженный иммунный дисбаланс наблюдался у онкологических больных.

Предполагается, что многие заболевания сопровождаются неявно выраженной неполноценностью иммунной системы. Нами были выявлены изменения иммунологической реактивности во всех группах обследованных больных. Эти изменения в большинстве случаев имели однонаправленный характер, что говорит о способности иммунной системы отвечать на различные виды раздражителей универсальным набором защитных механизмов. Однако у больных хроническим описторхозом и у пациентов с неописторхозным холангиохолециститом были получены достоверные различия в ряде показателей, изменяющихся в одном направлении (содержание CD3, CD4, CD8 лимфоцитов), и обнаружена диссоциация некоторых показателей (процент бласттрансформации в РБТЛ с ФГА). При исследовании показателей клеточного иммунитета у онкологических больных и больных хроническим описторхозом выявленные изменения имели одинаковую направленность, но разную степень выраженности. Таким образом, можно предположить, что обнаруженные изменения иммунологической реактивности могут быть ответственны за нарушение иммунологического контроля опухолевой прогрессии у больных хроническим описторхозом.

Состояние компонентов сфингомиелинового цикла в лимфоцитах крови при патологии гепатобилиарной зоны

Иммунологические модуляции, происходящие при заболеваниях органов ГБЗ, как показало наше исследование, характеризуются как количественными изменениями популяций Т-лимфоцитов (табл.2), так и нарушением их функциональных свойств (рис.1). Известно, что в формировании и регуляции иммунного ответа важную роль выполняет липидный состав мембран иммунных клеток [Булыгин Г. В., 1999]. Благодаря исследованиям последних пятнадцати лет стало известно, что помимо структурной роли сфинголипидов, они также участвуют в регуляции активационной способности лимфоцитов [Felding-Habermann B., 1990; Мартынова Е.А., 1998]. Метаболизм сфинголипидов в клетках иммунной системы является одной из сигнальных систем, контролирующей созревание, дифференцировку и активацию лимфоцитов в ответ на воздействие антигенов и митогенов [Мартынова Е. А., 2001].

Сфингомиелиновый цикл – это метаболический путь, компонентами которого являются сфингомиелин и продукты его гидролиза (церамид, сфингозин, сфингозин-1-фосфат), осуществляемого соответствующими ферментами (сфингомиелиназа, церамидаза, сфингозинкиназа) [Алесенко А. В., 1997].

Полученные в ходе исследования данные об изменении содержания метаболитов сфингомиелинового цикла в лимфоцитах при патологии гепатобилиарной зоны представлены на рис 2. Нами выявлено снижение содержания первого из компонентов цикла – сфингомиелина, во всех обследованных группах больных. Установлено, что количество сфингомиелина в лимфоцитах крови при патологии ГБЗ снижается как вследствие активации его

гидролиза, так и при недостаточности синтеза этого липида. Факторами, свидетельствующими о преобладании гидролиза сфингомиелина над его синтезом в лимфоцитах крови является выявленная нами активация сфингомиелиназы (рис.3), гидролизующей этот липид, и повышенное содержание фосфатидилхолина (рис.2), использующегося в реакциях синтеза сфингомиелина.

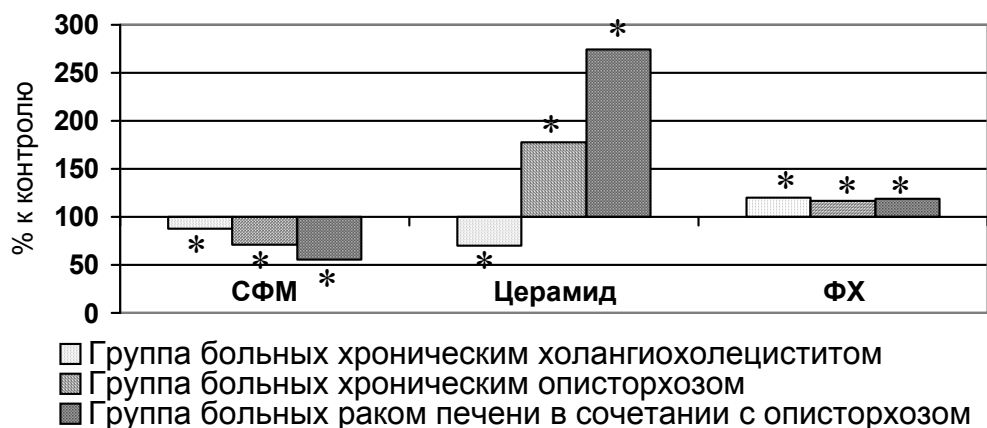


Рис.2. Содержание сфингомиелина, церамида и фосфатидилхолина в лимфоцитах крови при патологии гепатобилиарной зоны (в % от соответствующих показателей контрольной группы, показатели контрольной группы приняты за 100%)

Примечание: СФМ - сфингомиелин, ФХ – фосфатидилхолин

Активация сфингомиелиназы, зафиксированная нами во всех группах больных (рис.3), свидетельствует, что при хроническом воспалении органов ГБЗ как описторхозной, так и неописторхозной этиологии, в лимфоцитах активируется сфингомиелиновый цикл. Подобная метаболическая реакция наблюдается и у пациентов, имеющих рак ГБЗ, протекающий на фоне описторхоза. Выявленное повышение активности сфингомиелиназы во всех изученных группах пациентов приблизительно на одинаковую величину при сравнении с контрольным значением свидетельствует об отсутствии специфичности изменения данного показателя при различной патологии органов

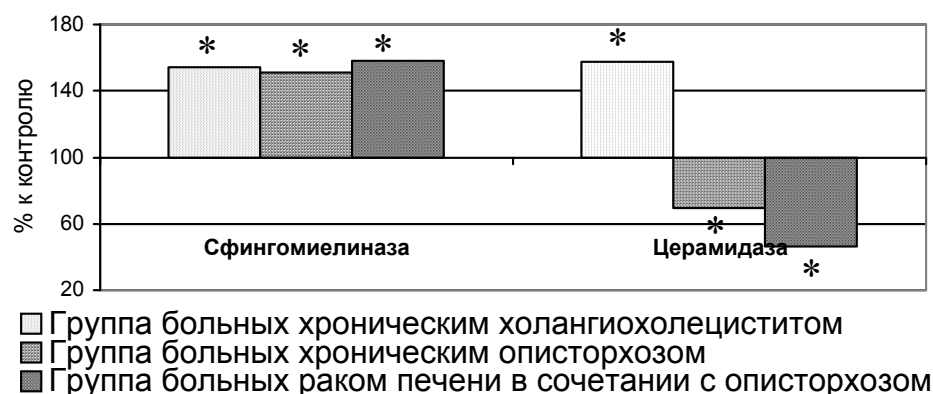


Рис. 3. Активность сфингомиелиназы и церамидазы в лимфоцитах крови при патологии гепатобилиарной зоны (в % от соответствующих показателей контрольной группы, показатели контрольной группы приняты за 100%)

ГБЗ. Такое неспецифичное повышение активности сфингомиелиназы, по-видимому, указывает на важную роль сфингомиелинового цикла в различных родах реакций клеток иммунной системы в ответ на присутствие антигенов, в том числе и описторхозного происхождения.

Не исключено, что активация сфингомиелиназы связана с воздействием модуляторов ее активности. К внутриклеточным регуляторам активности сфингомиелиназы относятся, в частности, продукты действия фосфолипаз A₂, C и D - арахидоновая кислота, лизофосфолипиды, фосфатидная кислота, диацилглицерол [Бабено Н. А., 1992].

Мы определили активность фосфолипазы A₂ и содержание лизофосфолипидов (ЛФЛ) - продуктов реакции, катализируемой этим ферментом. Активность фосфолипазы A₂ лимфоцитов крови была увеличена как в группе больных хроническим описторхозом, так и в группе больных раком гепатобилиарной зоны в сочетании с хроническим описторхозом на 62% и 57% соответственно. У больных неописторхозным холангиохолестиститом этот показатель не отличался от значения контрольной группы. Нами выявлено увеличение содержания ЛФЛ только в группе онкологических больных. В двух других группах обследованных больных количество ЛФЛ не изменялось (рис.4).

В последнее время появилось множество данных о регуляторной функции лизофосфолипидов [Грибанов Г. А., 1996; Проказова Н. В., 1997], которые ранее рассматривались только как эндогенные детергенты [Condrea E., 1975]. Физиологическое значение повышения ЛФЛ связывают с их способностью усиливать клеточную пролиферацию, стимулировать адгезию и дифференцировку лимфоидных клеток, оказывать митогенный эффект на макрофаги, активировать Т- лимфоциты, инициировать хемотаксис моноцитов [Проказова Н. В., 1999].

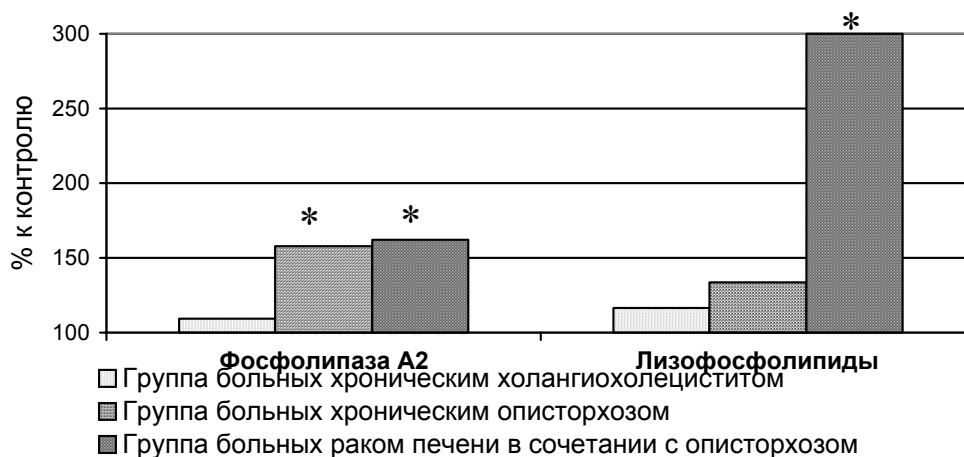


Рис.4 Активность фосфолипазы A₂ и содержание лизофосфолипидов в лимфоцитах крови при патологии гепатобилиарной зоны (в % от соответствующих показателей контрольной группы, показатели контрольной группы приняты за 100%)

Выявленное нами сочетание высокой активности фосфолипазы A₂ и нормального содержания ЛФЛ у больных хроническим описторхозом кажется противоречивым. Напротив, сочетание высокой активности этого фермента и увеличенного содержания продуктов его действия - ЛФЛ, является вполне закономерным. Однако известно, что ЛФЛ в повышенных концентрациях являются токсичными соединениями. В связи с этим в клетке существуют

механизмы утилизации ЛФЛ, в частности, специфичные лизофосфолипазы, их расщепляющие [Брокерхоф Х., 1978]. Можно предположить, что при хроническом описторхозе работа ферментных систем, утилизирующих ЛФЛ, не нарушена. Поэтому, несмотря на увеличение активности фосфолипазы A_2 у больных хроническим описторхозом, содержание ЛФЛ остается нормальным. У пациентов, имеющих рак ГБЗ, протекающий на фоне хронического описторхоза, по-видимому, отсутствует подобная компенсаторная реакция. Показано нарушение работы мембраносвязанных ферментов, к которым относится и лизофосфолипазы, при онкологических заболеваниях [Стручков В.А, 2000]. Выявленное значительное увеличение содержания ЛФЛ в лимфоцитах крови больных раком ГБЗ может свидетельствовать о возможном участии этого соединения в нарушении активации лимфоцитов у данных больных путем повреждения этих клеток.

Таким образом причинами повышения активности сфингомиелиназы в лимфоцитах крови больных хроническим описторхозом и пациентов, имеющих рак, протекающий на фоне хронического описторхоза, могут являться внутриклеточные факторы, а именно активация фосфолипазы A_2 .

Вторым компонентом сфингомиелинового цикла является керамид [Дятловицкая Э.В., 1998]. При изучении количества керамида в лимфоцитах крови у пациентов с холангиохолестиститом нами выявлено его уменьшение при сравнении с контролем на 30% (рис.2). Уменьшение количества керамида может быть связано со снижением его синтеза или с активацией утилизации. Керамид образуется в результате расщепления сфингомиелина сфингомиелиназой [Пушкарева М.Ю., 1991]. Нами установлено снижение количества сфингомиелина с параллельным ростом активности сфингомиелиназы, что свидетельствует об ускорении образования керамида. Следовательно, у данных больных количество керамида может быть низким при условии активации его дальнейшего превращения. Ферментом, катализирующим этот процесс, является керамидаза, ведущая к образованию сфингозина [Жижина Г.П., 1994]. При изучении активности керамидазы в лимфоцитах крови установлено ее увеличение у больных неописторхозным холангиохолестиститом (рис.4). В связи с этим, можно сделать заключение, что у данных больных повышена активность сфингомиелинового цикла. Ранее нами показана повышенная активация лимфоцитов в тесте РБТЛ у больных холангиохолестиститом (рис.1), которая, вероятно, реализуется за счёт стимуляции сфингомиелинового цикла в лимфоцитах у данных больных.

В противоположность описанным выше изменениям, в лимфоцитах больных двух других групп количество керамида было существенно выше, чем в контрольной группе (рис.3). Причиной повышения количества керамида является преобладание его образования. Факторами, свидетельствующими об этом, являются выявленные нами уменьшение содержания сфингомиелина (рис.2) и повышение активности сфингомиелиназы (рис.3). Кроме того, накопление керамида у данных больных реализуется за счет угнетения активности керамидазы (рис.3). Таким образом, у больных хроническим описторхозом и у пациентов со злокачественными новообразованиями ГБЗ, ассоциированными с описторхозом, наблюдается активация сфингомиелинового цикла, в результате чего, однако, не происходит образования из керамида следующих метаболитов цикла. Причиной такого блокирования метаболического пути сфингомиелина является, по-видимому, недостаточная активность керамидазы, отмеченная нами.

Известно, что увеличение в лимфоцитах количества церамида блокирует CD3 – зависимую передачу сигналов, ингибирует синтез ДНК, снижает пролиферативный ответ лимфоцитов на митогены и иммунный ответ на Т-зависимые антигены, ингибирует интерлейкин-8 – индуцированную и интегрин-зависимую миграцию лимфоцитов, адгезию и пролиферацию цитотоксических лимфоцитов [Fujise S., 1999; Pyne S. et al, 1998; Мартынова Е. А., 2001].

В ходе сфингомиелинового цикла из церамида образуется сфингозин [Русаков С.А., 1999], который в отношении активации лимфоцитов имеет такие же свойства, что и церамид, но более выраженные [Merrill A. H., 1998]. Сфингозин-1-фосфат, образующийся из сфингозина под действием сфингозинкиназы, является конечным метаболитом сфингомиелинового цикла [Алесенко А. В., 1997]. Он в противоположность церамиду и сфингозину приводит к активации лимфоцитов [Мартынова Е. А., 1998]. В связи с тем, что нами было выявлено угнетение активности церамидазы и накопление церамида, можно сделать предположение, что образование последующих метаболитов цикла – сфингозина и сфингозин-1-фосфата снижено.

Накопление церамида (рис.2) и снижение образования сфингозин-1-фосфата в лимфоцитах у больных хроническим описторхозом и у больных раком ГБЗ, сочетающимся с хроническим описторхозом, может являться причиной нарушения активации лимфоцитов у данных больных. Ранее уже было указано, что нами выявлена низкая активационная способность лимфоцитов в спонтанном и индуцированном тесте РБТЛ у онкологических больных с сопутствующей паразитарной инвазией, а у больных хроническим описторхозом подобная реакция выявлена только в индуцированной РБТЛ (рис.1). Одной из вероятных причин низкой активности лимфоцитов и сопряженного с ней иммунного дисбаланса может являться нарушение функционирования сфингомиелинового цикла в этих клетках.

Состояние компонентов сфингомиелинового цикла в печени при экспериментальной хронической описторхозной инвазии

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что при описторхозе не бывает изолированного поражения желчевыводящих путей: в большинстве случаев развиваются поражения печени [Лимахина М. А., 1989; Пальцев А. И., 1998]. Известно, что рак печени является самым серьезным осложнением хронического описторхоза [Бражникова Н. А., 1989; Watanara P., 1996].

В патогенезе злокачественных новообразований большое значение имеет ингибирование естественной гибели трансформированных клеток [Pan H., 1997; Фильченков А. А., 1999]. Один из механизмов апоптоза связан с циклом сфингомиелина [Kolesnick R., 1999; Hannun Y. A., 2001]. Кроме того, известно, что компоненты сфингомиелинового цикла, являясь вторичными мессенджерами, участвуют в поддержании многих клеточных функций в норме [Стручков Е.Г., 1999; Дятловицкая Э.В., 2000; Алесенко А.В., 2002] и в формировании широкого спектра патологических процессов, включая аллергические [Ishibashi M., 2003], воспалительные [Kim S.J., 2003; Prescott S., 2003], бластоматозные [Bieberich E., 2001; Shabbits J.A., 2001; Exon J.H., 2003; Mitsuhashi M., 2003; Wang H., 2003]. В связи с этим, представляется важным изучение компонентов сфингомиелинового цикла в ткани печени при хроническом описторхозе. В связи с невозможностью

изучения ткани печени у больных хроническим описторхозом, нами была воспроизведена модель хронического описторхоза на животных.

Нами выявлено увеличение содержание сфингомиелина в печени при хронической описторхозной инвазии на 51% при сравнении с группой контроля (рис.5). Известно, что сфингомиелин активирует протеинкиназу С, ДНК-полимеразу и РНК-полимеразу, вызывает стимуляцию синтеза РНК [Hannun Y. A., 1996; Spiegel S., 1996; Дятловицкая Э. В., 1998; Levade T., 1999]. Установлено, что сфингомиелин, присутствующий в хроматине ядра, влияет на стабильность ДНК и ее биосинтез, причем при увеличении концентрации сфингомиелина в хроматине биосинтез ДНК повышается [Бабенко Н. А., 1998]. Можно сделать заключение о том, что накопление сфингомиелина при различных патологических состояниях (в том числе в ткани печени при хронической описторхозной инвазии) может приводить к интенсификации вышеперечисленных процессов. Увеличение количества сфингомиелина показано в малигнизированной ткани при раке яичника [Рылова С. Н, 1998] и раке лёгкого [Хышиктуев Б.С., 2000]. Так, было продемонстрировано увеличенное на 70% содержание сфингомиелина в опухолевом локусе ткани легкого при сравнении с нормальной тканью, а ткань, взятая по периферии удаленной части легкого и без признаков малигнизации содержала повышенное на 30% количество сфингомиелина [Хышиктуев Б. С., 2000]. Как показало наше исследование, содержание сфингомиелина в ткани печени мышей при описторхозной инвазии, было выше контрольного значения на 51%, что при сравнении с описанным в литературе процентом увеличенного количества сфингомиелина в опухолевом узле ткани легкого, является вполне сопоставимой величиной. Это свидетельствует о серьезных изменениях метаболизма клеток печени при описторхозной инвазии, которые носят сходный характер с описанными в литературе изменениями содержания сфингомиелина при злокачественном росте.

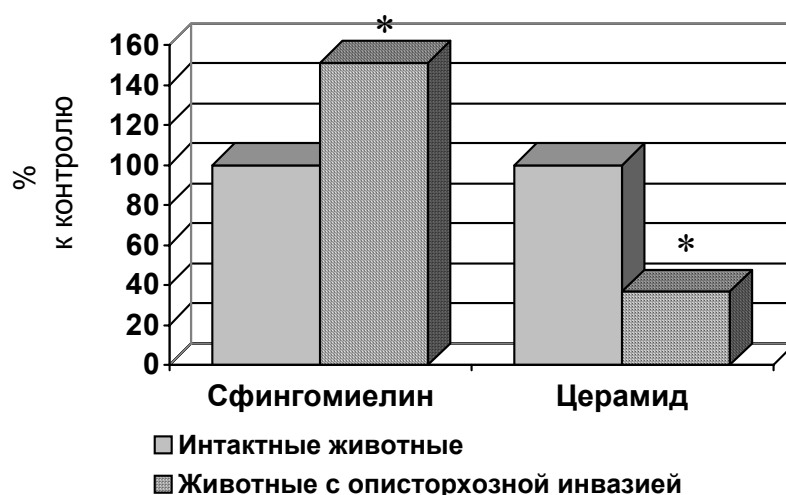


Рис.5. Содержание метаболитов сфингомиелинового цикла в печени при хронической описторхозной инвазии в эксперименте (в % к контролю)

Примечание: здесь и на рис. 6, 7 *- достоверное различие при сравнении с соответствующим показателем группы интактных животных ($P < 0,05$)

Показано, что сфингомиелин в клетке синтезируется с использованием церамида [Hannun Y.A., 1995]. Нами обнаружено уменьшение количества церамида в ткани печени при хронической описторхозной инвазии на 63%

(рис.5). Вероятно, снижение количества церамида связано с его использованием для синтеза сфингомиелина. Известно, что одним из механизмов повышения количества сфингомиелина и уменьшения содержания церамида при малигнизации является активация фермента сфингомиелинсинтазы [Luberto C., 1998]. Вторым механизмом, приводящим к повышению количества сфингомиелина, может являться недостаточность деградации этого липида. Ферментом, гидролизующим сфингомиелин до церамида, является сфингомиелиназа [Алесенко А. В., 1997]. В наших исследованиях мы выявили уменьшение активности сфингомиелиназы в ткани печени при хронической описторхозной инвазии на 33% (рис.6), что свидетельствует о низкой скорости гидролиза сфингомиелина. Таким образом, механизм повышения содержания сфингомиелина в ткани печени при хронической описторхозной инвазии носит сочетанный характер и связан как с увеличением синтеза, так и со снижением скорости гидролиза этого липида.

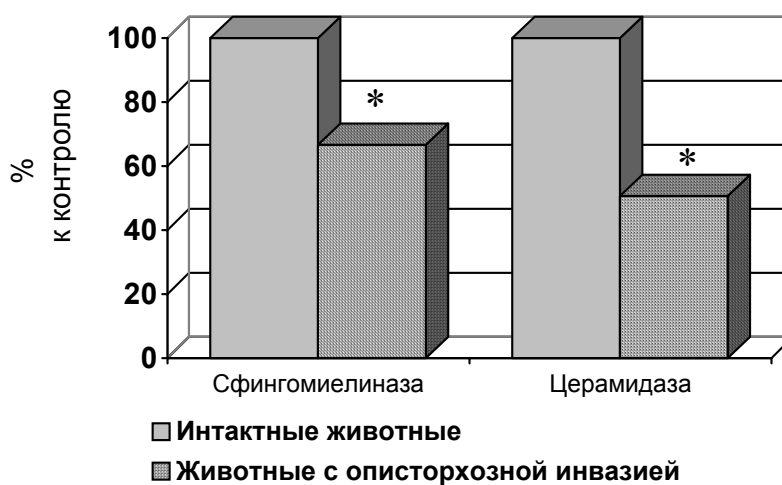


Рис.6. Активность сфингомиелиназы и церамидазы в печени при хронической описторхозной инвазии в эксперименте (в % к контролю)

Механизмы активации сфингомиелиназы до конца не изучены. Идентифицировано большое число экстраклеточных индукторов гидролиза сфингомиелина, ведущих к аккумуляции церамида: ФНО- α [Жижина Г. П., 1994; Liu B. et al, 1998; Krönke M., 1999], интерферон- γ [Libby E., 1996], Fas-лиганд [Аббасова С. Г., 1999; Jayadev S., 1995], фактор роста нервов [Wilkins G., 2000], ионизирующее излучение, химиотерапевтические препараты [Krönke M., 2001] и др. Среди эффекторов противоопухолевой защиты организма большое значение отводится фактору некроза опухолей [Ohta H et al, 1994; Spiegel S., 1996]. Доказано [Русаков С. А., 1993; Жижина Г. П., 1994; Wilkins G., 2000], что способность ФНО- α вызывать отторжение солидных опухолей обусловлена церамидом. Существует мнение, что ФНО- α активирует сфингомиелиназу опосредовано: при его связывании с рецептором происходит активация фосфолипаз A_2 и D, продукты действия которых являются мощными внутриклеточными активаторами сфингомиелиназы [Бабенко Н. А., 1999; Jayadev S., 1997].

Установлено увеличение активности фосфолипазы A_2 на 46% в печени мышей с хронической описторхозной инвазией (рис.7).

Продуктами действия ФЛА₂ является лизофосфолипиды (ЛФЛ) [Брокерхоф Х., 1989]. Нами обнаружено увеличение ЛФЛ при хронической описторхозной инвазии в 1,7 раза при сравнении с контрольной группой (рис.7).

Известно [Condrea E.,1975], что в повышенных концентрациях ЛФЛ действуют как эндогенные детергенты со способностью повреждать клетки или отдельные клеточные структуры, такие как мембраносвязанные белки (к числу которых принадлежит и сфингомиелиназа). В нашем исследовании мы обнаружили значительно повышенное содержание ЛФЛ в ткани печени животных с хроническим описторхозом, что может свидетельствовать о возможном участии этого соединения в повреждении клеток печени при хроническом описторхозе.

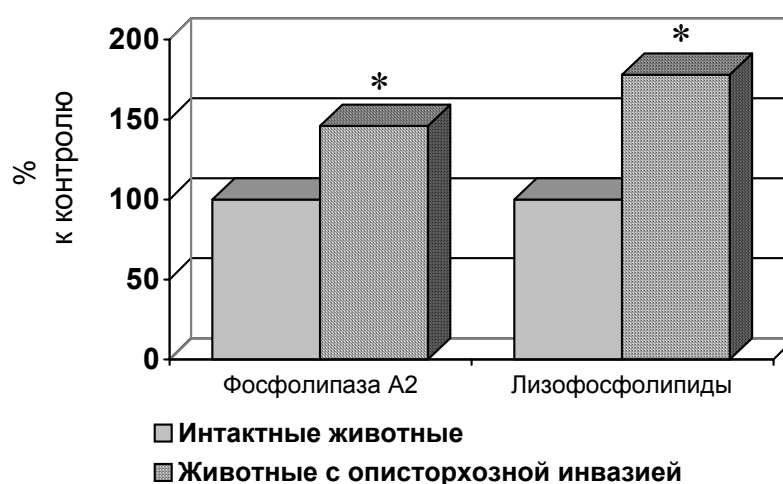


Рис.7. Активность фосфолипазы A₂ и содержание лизофосфолипидов в печени при хронической описторхозной инвазии в эксперименте (в % к контролю)

В последние годы пристальное внимание исследователей привлекает еще один компонент сфингомиелинового цикла - церамид, который, как было установлено, является вторичным мессенджером и участвует в процессах регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток [Liscovitch M., 1994; Дятловицкая Э. В., 1998]. Церамиды ингибируют пролиферацию и стимулируют апоптоз [Nakomori S., 1997; Levade T., 1999; Spiegel S., 1999; Алесенко А. В., 2001; Hannun Y. A., 2002], являясь естественными супрессорами опухолевого роста [Wolff R. A., 1995; Kolesnick R., 1999].

В нашей работе выявлено низкое содержание церамида в ткани печени мышей при хронической описторхозной инвазии (рис.5). Церамид под действием церамидазы превращается в сфингозин [Алесенко А. В., 1997], обладающий подобными церамиду регуляторными эффектами, но более выраженными [Wilkins G., 2000]. Уменьшение содержания церамида может быть связано с повышенным его использованием в синтезе сфингомиелина, либо в образовании сфингозина. Для изучения возможности использования церамида для синтеза сфингозина нами была исследована активность церамидазы в ткани печени при хронической описторхозной инвазии. Выявлено снижение активности этого фермента на 49% (рис.6). В связи с этим, весьма вероятно, что количество сфингозина, которое мы не определяли, также будет снижено. Церамид, сфингозин и сфингозин-1-фосфат являются активными метаболитами сфингомиелинового цикла, обладающими свойствами вторичных мессенджеров. При недостаточной скорости их образования, по данным литературы,

нарушается нормальное соотношение процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза [Spiegel S., 1999; Hannun Y. A., 2002]. В частности, блокируется естественная гибель клеток и усиливается их пролиферативная способность. Такие события в клетке, согласно современным представлениям [Pan H., 1997; Фильченков А. А., 1999], лежат в основе злокачественной трансформации и промоции опухолевого роста, и, по-видимому, могут являться причиной малигнизации ткани печени, происходящей на фоне описторхозной инвазии.

ВЫВОДЫ

1. Хронический описторхоз сопровождается дисбалансом иммунной системы. При хроническом описторхозе изменен иммунофенотипический профиль лимфоцитов (снижено содержание CD3, CD4, CD72, CD16 и увеличено количество CD8-лимфоцитов), ослаблена неспецифическая резистентность. При злокачественных новообразованиях гепатобилиарной системы, ассоциированных с хроническим описторхозом, изменения иммунологических показателей имеют однонаправленный характер, но более значимую степень выраженности.
2. Иммунный дисбаланс у больных хроническим описторхозом и пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, ассоциированными с хроническим описторхозом, сочетается с нарушением функционирования сфингомиелинового цикла в лимфоцитах крови. Накопление церамида является следствием увеличения его образования из сфингомиелина при активации сфингомиелиназы и ингибирования его гидролиза при снижении активности церамидазы.
3. Нарушение функционирования сфингомиелинового цикла в лимфоцитах крови у больных хроническим описторхозом и пациентов со злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы, сочетающимися с хроническим описторхозом, связано с активацией фосфолипазного и перекисного механизмов повреждения липидов.
4. Моделирование хронической описторхозной инвазии сопровождается дисфункцией сфингомиелинового цикла в ткани печени, что приводит к накоплению сфингомиелина и уменьшению количества церамида. Механизмы такого нарушения метаболического пути сфингомиелина связаны с ингибированием активностей ключевых энзимов – сфингомиелиназы и церамидазы.
5. Блокирование активности сфингомелиназы при хронической описторхозной инвазии в эксперименте связано с увеличением содержания лизофосфолипидов и продуктов свободнорадикального окисления липидов.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Некоторые показатели иммунной системы у больных с новообразованиями билиарного тракта на фоне хронического описторхоза // Сборник статей по материалам I конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке».-Томск.-2000. - С.36-38. – соавт.: Перевозчикова Т.В., Файт Е.А., Чемерис А.Н.
2. Исследование активности фосфолипаз гепатоцитов при воспалительных инфекционных заболеваниях печени // Материалы первой международной юбилейной конференции, посвященной 110 – летию со дня открытия проф. К.Н. Виноградовым сибирской двуустки у человека “Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии”. –Томск.-2001.- С.63.– соавт.: Новицкий С. В., Рыжов С.В., Нагайцев А.В., Серебров В.Ю.
3. Особенности состава ДНК - связанных липидов гепатоцитов у больных злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы на фоне хронического описторхоза // Там же.- С.63. – соавт.: Рыжов С. В., Новицкий С.В., Кармалита Е. Г., Комкова Т.Б., Серебров В.Ю.
4. Иммунный статус у больных злокачественными новообразованиями гепатобилиарной зоны на фоне хронического описторхоза // Там же.- С.82-83.- соавт.: Петровский Ф.И., Комкова Т.Б., Серебров В.Ю.
5. Соотношение компонентов сфингомиелинового цикла в гепатоцитах при воспалительных заболеваниях печени // Там же. - С.64. – соавт.: Вавилкин Д.А., Рыжов С.В., Богданов И.А., Нагайцев А.В., Серебров В.Ю.
6. Особенности липидного метаболизма печени больных различными видами вирусных гепатитов // Вестник российского государственного медицинского университета. –2001.- №2 (17). - С. 150. – соавт.: Новицкий С.В., Нагайцев А.В.
7. Роль клеточных липидов в апоптотической гибели гепатоцитов при вирусном гепатите // Материалы II – ой Российской конференции молодых ученых России с международным участием “Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины” – Москва.-2001. – Том 1. - С.70.- соавт.: Нагайцев А.В., Рыжов С.В., Новицкий С.В.
8. Изучение состава внутриядерных липидов гепатоцитов больных злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы на фоне хронического описторхоза // Там же. - С.74-75. – соавт.: Рыжов С.В., Новицкий С.В., Нагайцев А.В.
9. Характеристика ферментативного гидролиза и состава липидов печени и сыворотки крови у больных вирусными гепатитами // Там же. - С. 75.- соавт.: Новицкий С.В., Рыжов С.В., Нагайцев А.В.
10. Активность кислой и щелочной эндонуклеаз в печени больных хроническими вирусными гепатитами // Тезисы докладов IV Российской научно – практической конференции “Гепатит В, С и D – проблемы диагностики, лечения и профилактики” - Москва. – 2001. - С. 246-247. - соавт.: Нагайцев А.В., Рыжов С.В., Новицкий С.В., Вавилкин Д.А., Серебров В.Ю.
11. Активность фосфолипаз гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах // Там же. - С. 254.- соавт.: Новицкий С.В., Рыжов С.В., Серебров В.Ю.
12. Жирнокислотный состав сфинголипидов гепатоцитов у больных раком печени // Сборник статей по материалам II конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке».-Томск.-2001.-С.221-222
13. The Comparative Perfomance of Hepatocytes Membranes Damages at the Liver Diseases of Various Genesis in Conditions of Western Siberia // 5th Korea – Russia International Symposium on Science and Technology. - Tomsk, Russia.- 2001. - P. 114 – 117. – соавт.: V.Y. Serebrov, S.V. Ruzhov, S.V. Novitskii, A.V. Nagaitsev, E.G. Karmalita
14. Состояние мембран липосом и активность фосфолипазы A₂ // Труды международного форума по проблемам науки, техники и образования. – Москва. - 2001. - С.102. –соавт.: Кармалита Е.Г., Серебров В.Ю., Новицкий С.В., Нагайцев А.В.
15. Перекисное окисление липидов и активность фосфолипаз в ткани печени больных вирусными гепатитами // Материалы IV международной конференции

«Биоантиоксидант». – Москва.- 2002. - С.423.- соавт.: Новицкий С.В., Вавилкин Д.А., Нагайцев А.В., Кармалита Е.Г., Серебров В. Ю.

16. Роль перекисного окисления липидов в активации встроенной в липосому фосфолипазы A_2 // Там же. - С.252.- соавт.: Кармалита Е.Г., Серебров В. Ю., Новицкий С.В., Рыжов С.В., Вавилкин Д.А.

17. Активность перекисного окисления липидов у больных раком печени, ассоциированным с хроническим описторхозом // Там же. – Москва.- 2002. - С.424. – соавт.: Новицкий С.В., Вавилкин Д.А., Серебров В.Ю.

18. Соотношение компонентов сфингомиелинового цикла и состав липидов у больных вирусными гепатитами // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. - №8. - С.3-5. – соавт.: Нагайцев А.В., Новицкий С.В., Вавилкин Д.А., Серебров В.Ю.

19. Активность фосфолипазы A_2 при различном встраивании в липосомы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-2002.-№9. - С.251-254. – соавт.: Кармалита Е.Г., Серебров В.Ю., Новицкий С.В.

20. Влияние липосом, содержащих модуляторы цикла сфингомиелина, на воспаление печени при CCl_4 гепатите // Сборник статей по материалам IV конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке».-Томск.-2003. – С.166. – соавт.: Новицкий С.В., Вавилкин Д.А.

21. Компоненты сфингомиелинового цикла в ткани печени при хронической описторхозной инвазии в эксперименте // Актуальные проблемы медицины и биологии: Сборник научных работ. - Выпуск 2. – Томск. –2003. - С.220. – соавт.: Новицкий С.В., Вавилкин Д.А., Комкова Т.Б.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГБЗ	-гепатобилиарная зона
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ЛФЛ	- лизофосфолипид
МДА	- малоновый диальдегид
ПОЛ	- перекисное окисление липидов
РБТЛ	-реакция бластной трансформации лимфоцитов
РНК	- рибонуклеиновая кислота
СФМ	- сфингомиелин
ТСХ	- тонкослойная хроматография
ФГА	-фитогемагглютинин
ФЛ A ₂	- фосфолипаза A ₂
ФЛD	- фосфолипаза D
ФНО	- фактор некроза опухолей
ФХ	- фосфатидилхолин

Лицензия ЛР № 020597 от 22.08.97
Тираж 100. Заказ № 35465
Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники
пр. Ленина, 40