

УДК 616-003.236+616.366-002-053.2/.6

Морфокінетична характеристика жовчі в дітей із хронічними вірусними гепатитами в період ремісії

Н.В. Лагунова, О.Д. Лебедева

Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгіївського

Ключові слова: жовч, кристал, фрактальна розмірність, хронічний вірусний гепатит, діти.

Захворювання органів гепатобіліарної зони привертають до себе дедалі більшу увагу гастроентерологів через неухильне зростання захворюваності серед дитячого й дорослого населення. Інтерес до досліджень з даної теми пов'язаний із високою поширеністю даної патології, як у дорослих, так і в дітей, а також різною тактикою діагностики, а деколи й малоефективною терапією [1].

Одним із важливих питань дитячої гастроентерології постає дослідження процесів жовчодинаміки при хронічній вірусній патології печінки, їх вплив на зміну колоїдності жовчі й формування холелітіазу, що посилює перебіг основного захворювання. У нормі жовч являє собою стабільний гомогенний міцелярний розчин. У здоровій жовчі холестерин і білірубін не випадають в осад завдяки їх входженню у водорозчинний комплекс, основу якого складають білки і жовчні кислоти. При порушенні фізіологічної динаміки і підвищенні літогенності жовчі зв'язки всередині цього білкового комплексу зменшуються, холестерин і білірубін відщеплюються і стають матеріалом для формування жовчного осаду, який при певному ступені вияву є інструментальною ознакою діагностики холестази.

Жовчні кислоти, є основним органічним компонентом жовчі, що регулює її стабільність. На сьогодні встановлено, що не тільки збільшення концентрації холестерину в жовчі, але й зменшення змісту жовчних кислот в ній є біохімічною ознакою холелітіазу, яка характерна саме для початкових стадій його формування. І питання про зміну біохімічного складу жовчі актуальне в плані розробки методів ранньої діагностики холестатичних змін у дітей із патологією гепатобіліарної зони.

Останнім часом обговорюється питання про прогностичне значення ранньої діагностики біліарного сладжа, що формується в жовчному міхурі на доклінічному етапі холестатичних порушень. Вивчення порушень стабільності жовчі за відсутності клінічних ознак холестази в дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімального ступеня активності в стадії ремісії і стало предметом нашого дослідження.

Матеріал і методи

Дана робота ґрунтується на результатах біохімічних, біофізичних і мікроскопічних методів дослідження 32 дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімального ступеня активності в стадії ремісії. До групи обстежених дітей увійшли хворі у віковій категорії від 6 до 17 років: 17 дітей із вірусним гепатитом В і 15 дітей із вірусним гепатитом С. За даними клінічного обстеження й лабораторно-біохімічних показників крові і жовчі достовірних відмінностей відмічено не було, що дозволило нам об'єднати їх в одну групу хронічних вірусних гепатитів мінімального ступеня активності в стадії ремісії.

Групу порівняння склали 20 відносно здорових дітей в ідентичній віковій категорії. Для оцінки стану обстежуваних хворих застосовувалися стандартизовані клініко-лабораторні й інструментальні методи дослідження відповідно до загальноприйнятої методики [2, 3, 4]. Для діагностики ранніх змін фізико-хімічних властивостей жовчі нами були застосовані мікроскопічні методи дослідження в прямому й поляризованому світлі, які визначалися метою та завданнями роботи [5-9].

Жовч для дослідження була отримана

за допомогою проведення традиційного дуоденального зондування в дітей в обох групах за допомогою одноразових дуоденальних зондів. Для дослідження літогенних властивостей жовчі проводилося визначення біохімічних і біофізичних параметрів міхурної жовчі. Біохімічні параметри включали визначення вмісту холестерину, білірубину, жовчних кислот і рівня холато-холестеринового коефіцієнта, а для біофізичної оцінки стану жовчі в роботі застосовувався метод мікроскопії в поляризованому світлі, яке дозволяє проводити морфокінетичний аналіз фазового складу біологічного середовища. У якості діагностичних параметрів при аналізі фазового складу жовчі виступали кінематика процесів агрегації в тимчасовому показнику й морфологія структур, що виникають при цьому. Мікроскопія міхурної жовчі в світлі проводилася нами через 1 годину, 3 години і 24 години після приготування препарату, відповідно до загальноприйнятих законів кристалізації. Цифровий морфометр вимірював фрактальну розмірність кристалів жовчі геометричним методом за формулою, згідно з якою фрактальна розмірність кристалів D визначається як тангенс кута нахилу залежності квадрата периметра L^2 від площі S , побудованої в подвійних логарифмічних координатах:

$$D = \frac{\text{const} + \ln L^2}{\ln S}$$

де: D – фрактальна розмірність;
 L – периметр;
 S – площа.

Технічна підтримка дослідницької роботи здійснювалася за допомогою наглядного поляризаційного мікроскопа

Табл. 1

Характеристика біохімічних властивостей жовчі міхурної порції в дітей із функціональними розладами і запальними захворюваннями гепатобіліарної зони в стадії ремісії ($M \pm m$)

Групи дітей	Холестерин жовчі г/л	Білірубін жовчі ммоль/л	Жовчні кислоти г/л	ХХК
Хронічний гепатит В і С n = 32	1,32 ± 0,07 P<0,001	3,30 ± 0,17 P<0,001	20,67 ± 0,37 P<0,001	16,77 ± 0,28 P<0,001
Контроль n = 20	1,11 ± 0,05	2,67 ± 0,15	23,20 ± 0,29	21,53 ± 0,78

Примітка: Р - достовірність відмінності з аналогічними показниками групи контролю;

ХХК - холато-холестериновий коефіцієнт.

“Leitz Ortolux 2 Pol3k”. Для збереження зображення препарату і його подальшого аналізу застосовувалася кольорова камера: CCD камера ПЗС (прилад зарядовим зв'язком). Захоплення кадрів для запису в комп'ютер проводилося за допомогою відео – тюнера AVER-MEDIA з розділенням 640/480 пікселів.

Результати та обговорення

У всіх дітей обох груп відмічався нормальний рівень біохімічних маркерів холестазу сироватки крові (загальний білірубін, холестерин, лужна фосфатаза), а біохімічний склад жовчі в групі дітей із хронічними вірусними гепатитами в стадії ремісії (холестерин, білірубін, жовчні кислоти і холато-холестериновий коефіцієнт) не виходять за межі референтних значень. Дані наведені в Табл. 1

Як видно з даних табл. 1, у дітей із групи з хронічними гепатитами в стадії ремісії має місце достовірне підвищення, порівняно з групою контролю, показників білірубину і холестерину жовчі і зниження рівня жовчних кислот та холато-холестеринового коефіцієнта, як за рахунок зниження концентрації жовчних кислот, так і за рахунок збільшення змісту холестерину, що, на нашу думку, може свідчити про початкові прояви порушення колоїдних властивостей жовчі. На підтвердження цього нами досліджений якісний склад жовчі в тимчасовому показнику. Як діагностичні параметри при аналізі фазового складу жовчі виступали кінематика процесів агрегації в тимчасовому показнику й морфологія структур, що виникають при цьому.

У результаті дослідження жовчі порції В дітей з групи контролю нормальний (дендритний) тип кристалізації жовчі відмічений нами в усіх дітей (100,0 %), причому поява одиничних оптично активних рідкокристалічних фаз спостерігалася не раніше 3-ї години з моменту приготування препарату й відмічалася в мінімальній кількості, а реєстрація твердокристалічних фаз не визначалася, що свідчило про збереження жовчі в системі міцелярний розчин — рідкий кристал.

У групі дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімальної активності в стадії ремісії у всіх дітей відмічався патологічний (дисклінаційний) тип

кристалізації зі зрушенням формування регулярних твердокристалічних фаз у бік раннього розвитку (через 1 годину після приготування препарату). При аналізі фазового складу жовчі у всіх дітей із хронічними гепатитами були виявлені не тільки порушення кінематики процесів агрегації, але й морфології, регулярних твердокристалічних структур, що виникають при цьому. Кінематика кристалізації й морфологія рідкокристалічних фаз у дітей із хронічними гепатитами представлені на мал. 1, мал. 2.

Після приготування препарату відмічаються ознаки грубого порушення агрегації компонентів жовчі, що визначається формуванням суворо

Табл. 2
Фракальна розмірність кристалів жовчі в дітей із хронічними вірусними гепатитами в стадії ремісії ($M \pm m$)

Групи дітей	Кількість оброблених фракталів	Dmin	Dmax	Дсеред
Хронічний гепатит В і С n = 32	11,25 ± 0,46 P<0,001	1,15 ± 0,03 P<0,001	1,31 ± 0,02 P<0,001	1,23 ± 0,02 P<0,001
Контроль n = 20	120,70 ± 3,80	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01

Примітка: Р – достовірність відмінності з аналогічними показниками групи контролю.

впорядкованих оптично активних фаз у із групи контролю, що характеризує вигляді раннього формування безлічі рідких кристалів і початку зростання твердих кристалів.

Як показано на даній мікроскопії, у поляризованому світлі (мал. 1) реєструється зростання всіх типів кристалів (рідкий, твердий) з формуванням у процесі агрегації високоорганізованих оптично активних регуляр-

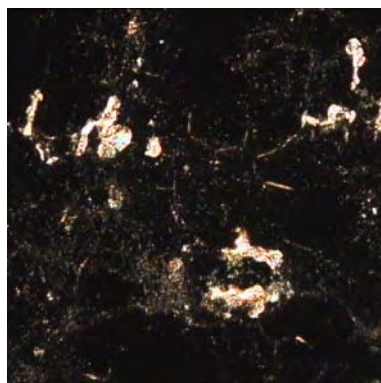
них фаз.

Як видно на мал. 2, регулярна твердокристалічна фаза, організована через 24 години експозиції літогенної жовчі, має всі ознаки фрактального зростання (повторюваність, ідентичність, задіяні в одній системі кристала), що веде до високої фрактальної розмірності й характеризує вияв холестазу.

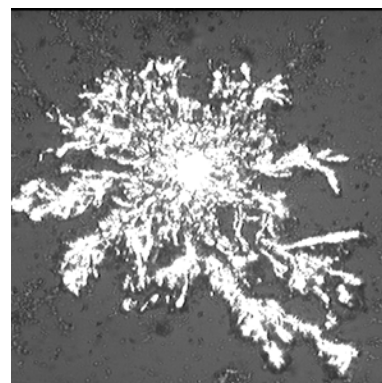
Фрактальна розмірність (D) обчислюється дробовим числом без одиниць вимірювання. При цьому виділяються мінімальні й максимальні значення фрактальної розмірності, що відповідають мінімальним і максимальним оптично активним структурам жовчі (дані наведено в табл. 2).

Як видно з табл. 2, у групі дітей із хронічними гепатитами число оброблених фракталів статистично значно менше, ніж у дітей з контрольною групою, що характеризує підвищені агрегаційні властивості літогенної жовчі. Проте фрактальна розмірність кожного з них висока, що визначається набуттям ними властивостей високоорганізованого твердого кристала.

У дітей з хронічними гепатитами В і С фрактальна розмірність достовірно перевищує аналогічні показники в дітей



Мал. 1. Поляризацийна мікроскопія жовчі В хворого на хронічний вірусний гепатит С, мінімальна активність. X70. Час експозиції 3 години.



Мал. 2. Поляризацийна мікроскопія жовчі В хворого на хронічний вірусний гепатит С, мінімальна активність. X130. Час експозиції 24 години. Комп'ютерна обробка з погашенням сторонніх оптичних шумів.

холестазу та нормальних показниках активності в стадії ремісії виявлено біохімії жовчі під час проведення її достовірне зменшення кількості поляризаційної мікроскопії з оброблених фракталів порівняно з дітьми визначенням фрактальної розмірності з групи контролю, що пояснюється кристалів жовчі вже спостерігаються високими агрегаційними процесами в ранні ознаки холестатичних порушень, жовчі.

Висновки

1. У дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімальної активності у стадії ремісії мало місце незначне зниження рівня жовчних кислот і холо- холестеринового коефіцієнта в біохімії жовчі порівняно з дітьми з групи контролю, не виходячи за межі референтних значень.
2. У дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімальної активності в стадії ремісії ми дійшли висновку, що в даній групі дітей при стадії ремісії відмічено порушення процесів агрегації жовчі порції В з холестази і нормальних показників розвитку патологічного (дисклі- наційного) типу кристалізації жовчі.
3. У дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімальної активності в стадії ремісії відмічено порушення кінематики кристалізації жовчі порції В зі зрушенням у тимчасовому показнику в бік раннього розвитку (раніше 3-ї години) з утворенням твердих кристалів.
4. У групі дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімальної

5. Фрактальна розмірність утворених твердокристалічних регулярних структур жовчі, що виникають через 24 години експозиції препарату, достовірно вище, ніж у групі контролю, підтверджуючи розвиток холестатичних порушень у даній групі дітей.

Враховуючи результати проведеного порівняльного комплексного дослідження біохімічних і фізико-хімічних властивостей жовчі в дітей із хронічними вірусними гепатитами мінімальної активності в стадії ремісії, ми дійшли висновку, що в даній групі дітей при стадії ремісії відсутності клінічних симптомів відсутності клінічних симптомів холестази і нормальних показників розвитку патологічного (дисклі- наційного) типу кристалізації жовчі.

Литература

1. Белоусов Ю.В. *Деякі актуальні питання педіатричної гепатології* // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2004. – № 5. – С. 17–20.
2. Грызун В.В. *Возможности применения теории надежности и фрактального анализа в медицинском прогнозировании* // Клиническая медицина и патофизиология. – 1996. – № 1. – С. 61–64.
3. Загоруйко Г.Е., Скидан П.Г. *Проблемы и перспективы развития методов количественного анализа фрактальных биологических структур* // Вісник проблем біології і медицини. – 2007. – № 2. – С. 102–107.
4. Кононенко Е.В., Залецкий Е.В., Лисиенко В.М. и др. *Поляризационное оптическое исследование фазового состава желчи.* – М., 2001. – 120 с.
5. Олейников О.О., Луценко А.Г., Слета Л.В. та ін. *Фрактальна морфометрія мікроциркуляторного русла печінки в нормі та при експериментальних впливах* // Проблеми кріобіології. – 2005. – № 3. – С. 511–512.
6. Тимифулатов Р.А. *Фрактальные комплексы липопротеидов крови и их свойства при гипоксии и гипотермии* // Вестник Санкт-Петербургской Государственной Медицинской Академии им. П.И. Мечникова. – 2004. – № 1. – С. 193–194.
7. Fromm H., Leuschner U. *Bile acids – Cholestasis – Gallstones : Advances in basic and clinical bile acid research.* – Kluwer : Acad. Publ., 2006. – P. 127–129.
8. Portincasa P., van Erpecum K.J., Jansen A. et al. *Behavior variouscholesterol crystals in bile from patients with gallstones* // Hepatology. – 1996. – Vol. 23, N 4. – P. 738–748.
9. Robberecht E., Koletzko R., Christophe A. *Several mechanisms contribute to the abnormal fatty acid composition of serum phospholipids and cholesterol esters in cholestatic children with extrahepatic biliary atresia* // Prostagland., Leukotrienes and Essent. Fatty Acids. – 2006. – С. 199–204.

Морфокинетическая характеристика желчи у детей с хроническим вирусным гепатитом в период ремиссии

Н.В. Лагунова, О.Д. Лебедева

В статье изложены основные изменения биохимического и физико-химического состава желчи пузырной порции у детей с хроническими вирусными гепатитами. Приводится анализ сравнительной оценки фрактальной размерности кристаллов желчи у детей с хроническими вирусными гепатитами, ремиссия по сравнению с группой контроля.

Ключевые слова: желчь, кристалл, фрактальная размерность, хронический вирусный гепатит, дети.

Morpho-kinetic characteristic of bile in children with chronic viral hepatitis in a period of remission

N.V. Lagunova, O.D. Lebedeva

The main changes of morpho-kinetic of bile of vesical portion in children with chronic viral hepatitis in a period of remission were presented in the article. Analysis of comparative estimation of fractal measurement of bile crystals in children with chronic viral hepatitis in a period of remission in comparison with group of control was brought.