

ЕКСКВІЗИТНІ РЕАКЦІЇ ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ КРИПТОГЕННОМУ ГЕПАТИТІ З ВИРАЖЕНИМ ВНУТРІШНЬОПЕЧІНКОВИМ ХОЛЕСТАЗОМ, УСКЛАДНЕНИМ ЕНЦЕФАЛОПАТІЄЮ

Попель С.Л.¹, Краснопольський С.З.², Човганюк О.С.², Мельник І.В.², Марків Г.Д.³, Барила Н.І.², Островська Л.М.⁴

¹Прикарпатський національний педагогічний університет ім. Василя Стефаника

²ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

³Центральна міська клінічна лікарня

⁴Обласна клінічна лікарня м. Івано-Франківськ, Україна

Резюме. У роботі наведено особливості структурних і біохімічних реакцій гепатоцитів та еритроцитів в поєднанні з електроенцефалографічними дослідженнями при криптогенному гепатиті. Встановлено, що криптогенний гепатит з ознаками холестазу проявляється морфологічними змінами гепатоцитів, які вказують на зменшення функціонально активної площі печінки внаслідок активації апоптозу, що свідчить про виражену мембранну патологію, пов'язану з активацією процесів перекисного окислення ліпідів і пригніченням функціональної здатності системи антиоксидантного захисту. Глибокі порушення функції печінки відображаються на стані нервових центрів головного мозку, що супроводжується наявністю характерних електроенцефалографічних патернів, які свідчать про розвиток печінкової енцефалопатії при криптогенному гепатиті з вираженим внутрішньопечінковим холестазом. Запропонований комплексний підхід у дослідженні гепатоцитів та еритроцитів з поєднаним визначенням активності процесів перекисного окислення ліпідів, функціональної здатності системи антиоксидантного захисту організму та електроенцефалографічних показників є доповненням для постановки діагнозу в клініці і призначення патогенетично обґрунтованої терапії холестатичних форм хронічних гепатитів.

Ключові слова: криптогенний гепатит, холестаз, електроенцефалографія, перекисне окислення ліпідів, система антиоксидантного захисту.

Вступ. Ексквізитні чи відображені реакції – це досить розповсюджена, універсальна відповідь різних клітин на локальні або генералізовані порушення регуляторних процесів в організмі, які обумовлені молекулярними змінами плазматичних мембран як адаптивного, так і патологічного характеру [1, 2]. При цьому порушення функції одних клітин може стати першопричиною розвитку хвороби, тоді як стан інших клітин стає порушеним внаслідок розвитку основного патологічного процесу [3, 4]. Однак, клітини тих органів, які стали першопричиною таких змін не завжди, а часто майже завжди є незручними і недоступними для широкого дослідження. Тому на перший план виступає завдання пошуку легкодоступних

об'єктів, які відносно часто і без шкоди для організму можна забрати для дослідження і які б досить повно відображали ті процеси, що протікають в цілому організмі в даний час. До таких клітин треба віднести клітини крові, і особливо еритроцити (Ер). Підвищений інтерес дослідників у галузі біології і медицини при різних станах організму людини і тварин обумовлений їх участю в процесах, пов'язаних з підтримкою гомеостазу на рівні цілого організму [5]. При цьому ексквізитні реакції Ер обумовлені принципово спільністю організації їх мембрани з іншими клітинними мембранами і можуть бути екстрапольованими на інші органи і системи в якості клітин, що закономірно відображають типові неспецифічні порушення молекулярної структури плазматичних мембран при найбільш різноманітних станах організму в цілому.

Крім специфічної ролі у газотранспортних процесах Ер, вони мають здатність до регуляції мікрореологічного статусу, кислотно-лужного і водно-електролітного балансу крові, приймають участь у переносі амінокислот, вуглеводів та ліпідів, вірусів, токсичних речовин, а також лікарських препаратів [6, 7, 8].

Однак, відсутні дані про морфо-функціональні зміни Ер при захворюваннях, які супроводжуються одночасними змінами у печінці і нервовій тканині, наприклад, при криптогенному гепатиті з холестазом, ускладненому енцефалопатією.

Обґрунтування дослідження. Важлива роль, яку відіграють Ер у підтримці гомеостазу на рівні цілого організму, викликає підвищений інтерес дослідників до цих клітинних форм при вивченні патогенезу різних захворювань [3, 5]. Доведено, що Ер зазнають серйозних змін структури і функції не тільки при гематологічній, але й при іншій патології різного генезу [1, 2, 9, 10]. З накопиченням великої кількості фактичних даних про різноманітні морфо-функціональні порушення, можна з впевненістю говорити про наявність загальних закономірностей розвитку патологічного процесу на рівні клітинних мембран.

Набагато менше відомо про поєднані реакції клітин різних за походженням, топографією, структурою та функцією, які знаходяться на тому чи іншому рівні диферен-

ціації в цілому організмі. При цьому існують тільки поодинокі роботи, в яких подані результати порівняльної характеристики мембранної патології клітин з електрофізіологічними властивостями організму при окремих захворюваннях [4].

І коли мова йде про тестування будь-якої клітинної системи, то виникає велика спокуса пошуку специфічних критеріїв змін клітинних структур, при повному ігноруванні шляхів пошуку універсальних неспецифічних змін структури клітини у співставленні з даними, отриманими за допомогою інших методик [3, 6, 11]. Багато в чому це пов'язано з триваючою вузькою спеціалізацією медичної науки, яка дозволяє глибоко проникати в надра "целюлярної патології" при відсутності належної уваги до інтегративної оцінки структурних, метаболічних і функціональних порушень з позиції однотипних за механізмом, але різних за проявом реакцій організму, як цілісної структури. Разом з тим вивчення загальних закономірностей розвитку різних по суті патологічних процесів, хоча і не забезпечує знання конкретних механізмів кожного процесу, все ж вони необхідне для виявлення біологічного значення цих закономірностей і концептуального підходу до їх розуміння [8]. На відміну від біології, сучасна медицина часто боїться більш широких узагальнень, занурюючись, зокрема, до акцентування уваги лише на специфіці клітинного дисбалансу. При цьому повністю залишаються поза увагою ексквізитні або "відображені" реакції, до числа яких відносяться поєднані порушення клітин різних органів у співставленні з електрофізіологічними змінами.

Мета дослідження: вивчити структурні та біохімічні реакції гепатоцитів та еритроцитів у поєднанні з електроенцефалографічними дослідженнями при криптогенному гепатиті.

Матеріали і методи. У хворого С.Л., у віці 55 років з діагнозом криптогенний гепатит проводили електроенцефалографічне і лабораторні дослідження до початку стаціонарного лікування. Контролем служили дані, отримані у цього ж хворого через 12 місяців після стаціонарного і подальшого амбулаторного лікування (протягом 3 тижнів).

У хворого виконана біопсія печінки з подальшою морфометричною оцінкою біоптатів. Дослідження проведене на гістологічних зрізах, забарвлених гематоксилином та еозином. Для морфометрії відбирали 500 одноядерних гепатоцитів, у яких зріз проходив через ядерце. Визначали площу профілю ядер і цитоплазми, їх співвідношення та коефіцієнт форми гепатоцита та його ядра. Морфо-функціональний стан Ер оцінювали за їх морфометричними показниками (площа і периметр профілю, коефіцієнт форми). Не менше, ніж 300 Ер вимірювали на мазках, забарвлених за Романовським-Гімза.

Для виявлення специфічних змін мікрорельєфу Ер застосовували скануючий електронний мікроскоп «JEOL-25M-T220A» (Японія) з аналізатором «EDAX» з прискорюючою напругою 20 kV. Препарати попередньо напилювали

шаром срібла (≈ 10 нм) в магнетронній приставці «ВУП-6М» (ВО «SELMI» м. Суми, Україна).

Визначали показники інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ): первинних (дієнових кон'югатів, ДК) і вторинних (малоновий диальдегід, МАД) продуктів ліпопероксидації, активності антиоксидантних ферментів: супероксиддисмутази (СОД) і КТ (КАТ) [24] та продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ), які визначали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразоном нейтрального характеру, що реєстрували при 370 нм та основного характеру при 430 нм [11]. Трансферин та церулоплазмін визначали за методом Г.О. Бабенка [12].

Оцінювали показник співвідношення активності СОД/КАТ в Ер, як фактора оцінки потенціалу системи антиоксидантного захисту (САОЗ) організму в цілому [7].

Аналіз антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) за інтегральним показником співвідношення сумарної антиоксидантної активності ферментів СОД/КАТ та сумарного вмісту продуктів ПОЛ проводили за формулою: $АПІ = (СОД + КАТ) / (ДК + МАД)$.

Для оцінки деструктивних процесів в клітинах печінки визначали активність аланін-трансферази (АлТ) і аспартаттрансферази (АсТ) за загальноприйнятими методиками.

Електроенцефалографічне обстеження здійснювали за допомогою діагностичного комплексу DX-NT (м. Харків, Україна) в режимі біспектрального аналізу з визначенням карти взаємнокореляційної матриці динамічних спектрів.

Морфо-метричний аналіз проводили за допомогою аналізатора зображень з програмним забезпеченням UTHSCSA Image Tool® [13]. Статистичну обробку результатів здійснювали за методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення. На гістологічних препаратах на фоні збереженої цитоархітектоніки печінкових часточок виявляються ознаки запалення, холестазу, в окремих клітинах – некротичні зміни. Це підтверджується збільшенням в 1,8 раз вмісту АлТ і у 1,4 раз АсТ. У 36,7% гепатоцитів спостерігаються ознаки гідропічної дистрофії. Під ядерною оболонкою розташований конденсований хроматин. Цитоплазма в окремих гепатоцитах ущільнена, що обумовлює зміни у формі клітин та ядер.

Встановити характер процесу допомагає наявність у деяких гепатоцитах великих ацидофільних гранул, що при порушенні структури ядра і зміні форми клітини свідчить на користь апоптозу [14]. Оскільки при некрозі, на відміну від апоптозу, в каріо- і плазмолемі виявляються деструктивні зміни [15, 17], то в такому випадку мають місце тільки явища фокального некрозу гепатоцитів, при відсутності східчастих некрозів. Жовчні каналці розширюються, а в портальних проходах і вздовж печінкових балок виявляється набряк і лімфоцитарно-плазмодитарна інфільтрація, внаслідок чого розширюють-

ся порталні зони.

При морфометричному дослідженні виявляється зменшення площі гепатоцитів та їх ядер – відповідно на 21,44 % і 12,16% ($p < 0,05$), що обумовлює збільшення співвідношення між площею ядра і цитоплазми до $0,19 \pm 0,001$ ($p < 0,05$). Контури гепатоцитів та їх ядер змінюють свої обриси. Збільшується також коефіцієнт форми ядер і гепатоцитів (відповідно до $1,24 \pm 0,06$ і $1,17 \pm 0,03$, $p < 0,05$). Розподіл гепатоцитів за площею вказує на її зміщення гістограми вліво, за рахунок збільшення клітин дрібних розмірів. При цьому 88,5% клітин мають площу від 50,0 до 150,0 мкм² (рис. 1), тоді як в нормі 85,3% з них мають розміри 100,0-250,0 мкм².

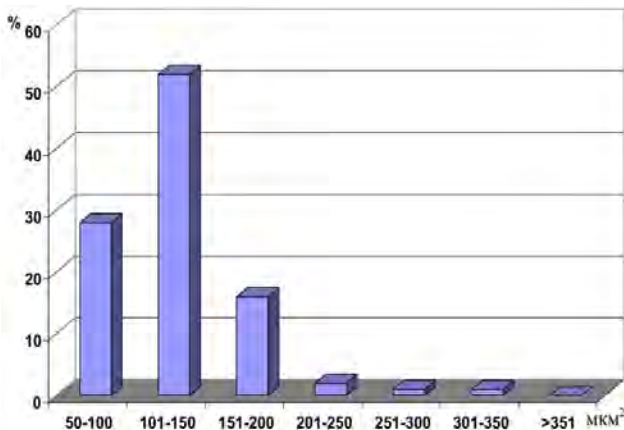


Рис. 1. Гістограма розподілу гепатоцитів за величиною показника площі клітин при КГП.

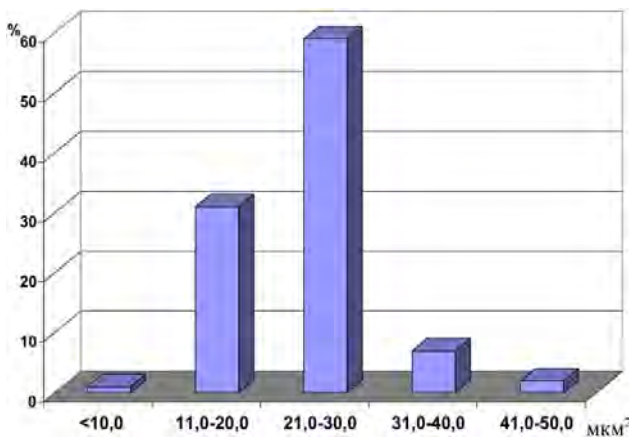


Рис. 2. Гістограма розподілу гепатоцитів за величиною показника площі ядра при КГП.

Таку саму закономірність мають зміни показників співвідношення площі ядра (рис. 2). При цьому 84,7% ядер мають площу від 11,0 до 30 мкм² (в нормі – майже у 80,0% клітин ядра мають площу від 21,0 до 50,0 мкм²). При збереженні в цілому унімодального типу гістограми розподілу клітин за відносними показниками (рис. 3) спостерігається збільшення кількості гепатоцитів (до 77,5%) із співвідношенням площі ядра до площі їх цитоплазми в межах від 0,16 до

0,20, тоді як в нормі переважна їх кількість (66,9%) знаходиться в діапазоні 0,1-0,30.

Про збільшення кількості деформованих гепатоцитів (74,8%) свідчить зміщення піка гістограми розподілу клітин за показником їх форми з 1,05-1,15 в нормі (89,4%) до 1,26-1,45 при КГП (рис. 4).

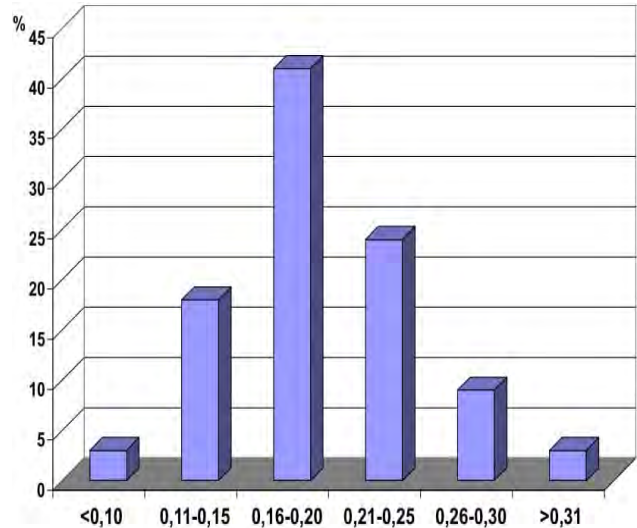


Рис. 3. Розподіл гепатоцитів за показником співвідношення площі клітини до площі ядра при КГП.

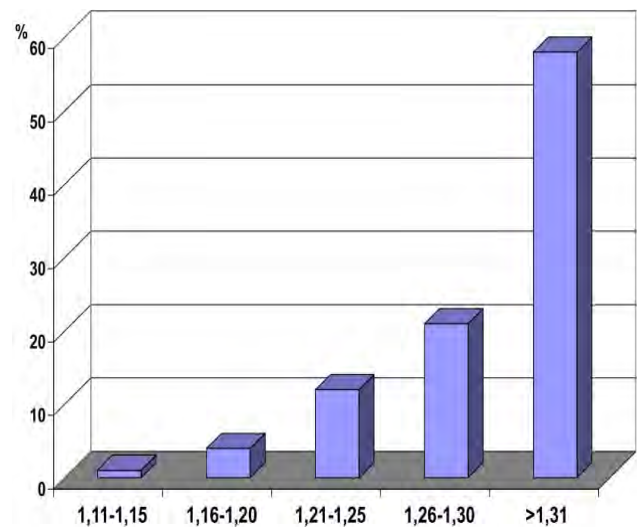


Рис. 4. Розподіл гепатоцитів за показником коефіцієнта форми клітини при КГП.

При цьому 16,9% клітин мають значний ступінь деформації, що відображається зсувом гістограми за рахунок клітин з показниками коефіцієнта форми від 1,45 до 2,0. У нормі такі клітини не виявляються, однак при інших видах уражень печінки коефіцієнт форми знаходиться на рівні 1,18–1,21 [17, 18].

У 16,2% клітин ядра зазнають значної деформації (рис. 5), що проявляється збільшенням коефіцієнта форми до 1,50. У нормі він не перевищує 1,20 і спостерігається тільки у 2,51%

від загальної кількості гепатоцитів [19, 20].

Виявлена у нашій роботі динаміка морфо-метричних змін структурних компонентів гепатоцитів співпадає із результатами досліджень, отриманих іншими авторами [4, 21, 22], які визначали морфологічну характеристику тривалого холестатичного синдрому у хворих на різні види гепатитів.

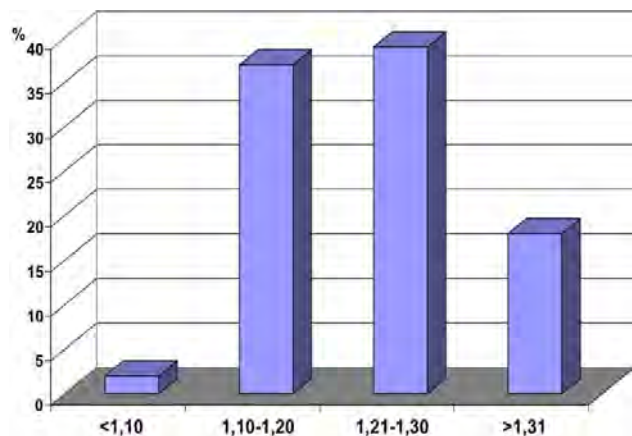


Рис. 5. Розподіл гепатоцитів за показником коефіцієнта форми ядра при КГП.

Показники, які свідчать про стан системи антиоксидантного захисту Ер, представлені в табл. 1.

Таблиця 1. Показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту еритроцитів при криптогенному гепатиті (M±m)

Група	Дієнові кон'югати,	Малоновий диальдегід,	СОД, од/хв мг білка	мкмоль/хв мг білка
Норма	2,09±0,01	1,06±0,02	164,59±10,17	75,1±3,81
Хронічний гепатит	3,26±0,02	2,16±0,02	105,9±4,52	32,4±1,62

Примітка: * – вірогідні зміни при $p < 0,05$.

Встановлено, що при КГП у даного пацієнта не виявлено суттєвих змін у показниках ПОЛ, але спостерігалися вірогідні зміни активності САОЗ Ер. При цьому вірогідно знизилася активність супероксиддисмутази (на 34,9%) і КТ (на 52,1%) порівняно з нормативними показниками. Такі результати збігаються з даними інших дослідників стосовно цих ферментів за умов гіпоксії в інших органах [18, 23].

Отримані результати вказують на те, що активність ферментів, які захищають клітини від великих концентрацій перекису водню, знижується, ймовірно через відсутність високих концентрацій вільних радикалів супероксиддисмутази і КТ.

При КГП визначається зниження продуктів перекисного окислення білків нейтрального

характеру (табл. 2). Водночас, не було виявлено вірогідних відмінностей у вмісті продуктів основного характеру перекисного окислення білків порівняно з інтактними тваринами.

Такий результат може бути свідченням ефективності дії ферментів САОЗ з ознаками функціонального виснаження їх активності [7, 17]. Оскільки ефективне забезпечення САОЗ відповідними ферментами можливе лише за умови їх координованої функції, ми дослідили зміни співвідношення активності ферментів супероксиддисмутази та КТ, як основних, так і взаємодоповнюючих антиоксидантних ферментів при хронічному гепатиті.

Таблиця 2. Показники окислювальної модифікації білків еритроцитів до лікування (M±m)

Група	Продукти	
	ммоль/г білка	основного характеру, о.о.г./г білка
Норма	4,0±0,16	40,1±1,24
Хронічний гепатит	4,5±0,03*	45,7±1,03

Примітка: * – вірогідно стосовно групи контролю ($p < 0,05$); # – вірогідно стосовно ЕГ ($p < 0,05$); ♦ – вірогідно стосовно ГП ($p < 0,05$).

Зміна показників співвідношення активності СОД/КАТ свідчить про внутрішній дисбаланс в САОЗ та зниження загального антиоксидантного потенціалу організму в цілому.

У нормі домінуючим антиоксидантним ферментом Ер є СОД, активність якого в 2,25 раз вища, ніж активність КТ (табл. 3).

При КГП спостерігається одночасне зниження активності обох ферментів. Однак за рахунок більш вираженого зниження активності КТ відбувається зростання показника СОД/КАТ на 33,2% порівняно з нормою.

Таблиця 3. Інтегральні показники прооксидантної та антиоксидантної системи еритроцитів при криптогенному гепатиті (M±m)

Група	СОД/КАТ	АПІ
Норма	2,25±0,11	43,79±3,51
Хронічний гепатит	3,05±0,17*	26,63±1,75*

Примітка: * – вірогідно стосовно норми ($p < 0,05$).

Інтегральний показник АПІ характеризує співвідношення сумарної активності антиокси-

дантних ферментів та інтенсивності процесів ПОЛ за сумарним вмістом його продуктів, що ефективно відображає стан антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в Ер [7, 9, 12]. Тому зміни показника АПІ ймовірно зумовлені як змінами активності САОЗ, так і змінами інтенсивності ПОЛ.

При КГП знижується показник АПІ на 39,43% порівняно з нормою за рахунок зниження активності антиоксидантних ферментів, що вказує на виснаження САОЗ на місцевому (клітинному) рівні. Активність антиоксидантних ферментів та їх кількість знаходиться у прямій залежності від прооксидантних чинників, оскільки підвищене утворення останніх веде до зростання активності антиоксидантної ферментативної системи в цілому.

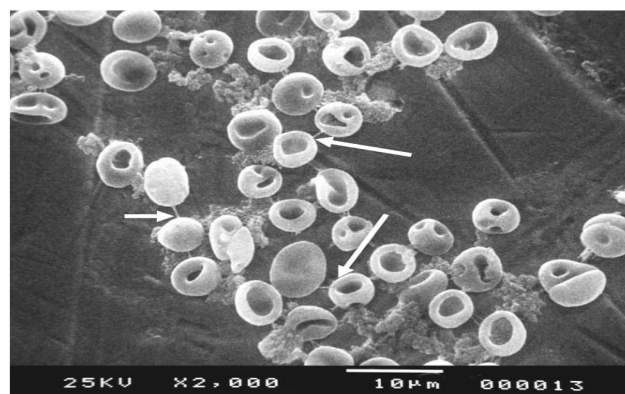
АПІ, розрахований за активністю КТ і концентрації малонового діальдегіду, показав, що в Ер в нормі він складає у середньому 43,79%, а при КГП зменшується до 26,52%, тобто статистично вірогідно знижується на 17,27% ($p < 0,05$).

Дослідження в електронному мікроскопі показали, що при КГП площа Ер зменшується до $45,98 \pm 0,86$ мкм². При цьому простежується їх відносний морфо-метричний перерозподіл, в результаті якого переважають клітини з площею від 35 до 55 мкм². Встановлено, що периметр Ер зменшився в середньому до $24,05 \pm 0,11$ мкм, а коефіцієнт форми Ер зменшується в середньому на $10,07 \pm 0,09\%$ ($p < 0,05$), що свідчить про значні відхилення контурів Ер від округлої форми. За показником форми у 59,02% всіх клітин пік гістограми знаходиться в діапазоні 1,10-1,15. У нормі такий показник спостерігається тільки у 9,61% Ер, а у 77,22% з них він коливається від 0,95 до 1,05, а при КГП – лише 1,43%.

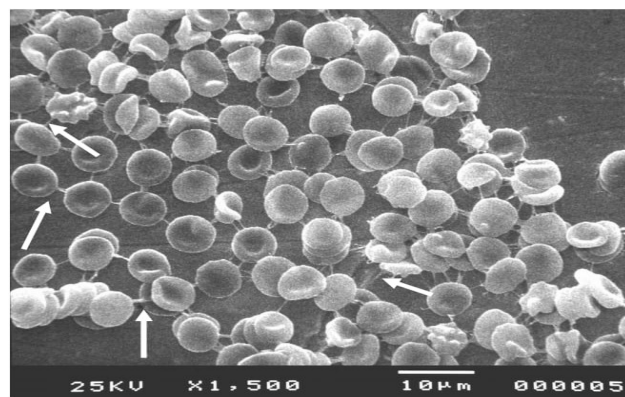
При визначенні рівня процесу ПОЛ та САОЗ у цього пацієнта встановлено підвищений вміст малонового діальдегіду до $6,33 \pm 0,05$ нмоль/л ($p < 0,05$) (в нормі тільки $3,79 \pm 0,03$ нмоль/л). Вміст КТ також підвищується до $73,98 \pm 3,43$ мг перекису водню /л (в нормі $68,81 \pm 0,63$ мг перекису водню /л). Це свідчить про порушення процесів ПОЛ за рахунок підвищення вмісту вільних радикалів і несприятливий характер перебігу КГП. Поряд з цим, вірогідно ($p < 0,05$) зменшується вміст церулоплазміну (у 2,88 раз) і трансферину (в 1,58 раз), що свідчить про виснаження САОЗ.

На думку окремих авторів [12, 24], збільшення у крові пацієнтів кількості феритину і заліза з одночасним зменшенням вмісту трансферину свідчить про активність запального процесу та фібротизацію печінки. Такі фактори (за рахунок їх здатності індукувати процеси ПОЛ і ослаблювати САОЗ створюють системний вплив на мембрани клітин. При цьому вони втрачають стійкість до дії вільних радикалів за рахунок низької стійкості до окисного стресу. Це обумовлює зменшення площі та периметру Ер при їх значній деформації (рис. 6 а), тоді як про аутоімунний характер поразення свідчить розвиток внутрішньосудинної адгезії Ер, за раху-

нок тонких ниток комплексу товщиною 50-60 нм (рис. 6 б).



а



б

Рис. 6. Поверхневий мікрорельєф трансформованих еритроцитів при криптогенному гепатиті з холестазом:

а – незворотно трансформовані еритроцити,

б – нитки адгезії на мембранах еритроцитів (показано стрілками). Скануюча електронна мікроскопія. Зб.: а – 7500, б – 1500.

Тобто посилення вільнорадикальних реакцій та ослаблення САОЗ, та зміни в еритроцитарному спектрі крові пов'язані між собою. Це було показано раніше при вивченні функцій Ер у хворих з іншою патологією при поєднаному ураженні гепатобіліарної системи [21] і цирозах печінки з анемією [17].

В останні роки при токсичних захворюваннях печінки велика увага приділяється апоптозу клітин імунної системи [25]. У обстеженого нами пацієнта рівень CD95+лімфоцитів збільшується в 3,22 рази ($p < 0,05$), що свідчить про Fas-залежний апоптоз.

Окремі автори [10, 14] вказують, що розвиток внутрішньоклітинного оксидативного стресу та індукція монооксигенування у клітинах запускають механізми, що викликають гіперекспресію Fas, який підвищує рівень апоптозу.

Дослідження способу життя і психосоматичного стану показало, що у даного пацієнта спостерігається синдром хронічної втоми і без-

соння. Крім постійного відчуття сильної втоми, характерними є апатія і депресія, болі в м'язах, гарячковий стан, сонливість, які тривають не менше шести останніх місяців. Ці ознаки свідчать про розвиток печінкової енцефалопатії [21].

Відомо [1, 26], що на синдром хронічної втоми скаржаться як жінки (89,2%), так і чоловіки (43,2%). При цьому у дослідженнях цих авторів вказується на більший відсоток синдрому хронічної втоми у людей, що працюють в інтелектуальній сфері.

У результаті ЕЕГ обстеження відмічаються виражені дифузні розлади біоелектричної активності кірково-підкіркових відділів головного мозку. Міжпівкулева асиметрія не реєструється. Зональні відмінності досліджуються непостійні. Реакція активації (р-ція на відкриття очей) відсутня. Домінує низько-, а під час гостро-хвильова середньо-амплітудна поліритмічна дизритмія у повільних тета-дельта діапазонах з нашаруванням гострих бета- і з фрагментарними сповільненими альфа-хвилями. Переважна локалізація патологічних коливань (повільних тета-дельта хвиль) в тім'яно-потиличних ділянках $D \geq S$ і лобно-передньо-скроневих ділянках $D > S$, тім'яно-потиличних ділянках $D \geq S$ головного мозку з реєстрацією дифузних спайк-еквівалентів, поліспайків, загострених альфа-хвиль. Відмічаються ознаки подразнення підкірково-базальних і серединних відділів з дисфункцією нижньостовбурових структур головного мозку. Все це вказує на наявність дисциркуляторно-дизметаболічної енцефалопатії складного генезу (рис. 7). Нами показано, що серед найбільш поширених ЕЕГ-ознак, які корелюють зі скаргами на порушення сну, є симптом затримки фонової активності. При цьому частота основного фонового ритму нижче норми і не менше 1 Гц. Така затримка основного ритму часто обумовлена дрімотним станом людини без ураження коркових чи підкоркових механізмів, які відповідають за генез основного ритму з синхронізацією відповідної частоти [27]. Це свідчить про відсутність органічного ураження коркових чи підкоркових структур у даного пацієнта при КГП.

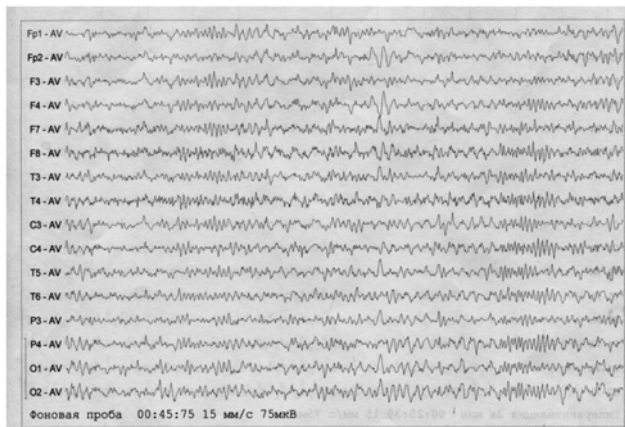


Рис. 7. Електроенцефалограма пацієнта С.Л., 55 р. (історія хвороби 12/34526 від 29.09.2016 р.)

Однак за даними наукової літератури встановлено, що у людей після 50 років однією з причин затримки фонової активності можуть бути судинна чи метаболічна патологія на фоні синдрому хронічної втоми чи безсоння [26]. У нашому випадку це підтверджується порушенням САОЗ Ер.

Подовжена повільна активність має таке ж значення, як і фонове уповільнення, проте звичайно знаменує вищий ступінь патології. Вона є результатом біохімічних або синаптичних порушень в коркових нейронах. Про структурні порушення нейронів при КГП різного генезу повідомляють окремі автори [27].

Фокальна подовжена повільна активність є відносно "специфічною" зміною, яка звичайно викликається гострою або підгострою прогресуючою депресивною ознакою. Проте, навіть статичні зміни можуть викликати низькоамплітудну регіональну повільну активність. Необхідно враховувати, що подовжена регіональна повільна активність може реєструватися впродовж тривалого часу, і служить несприятливим прогностичним показником по відношенню до можливості розвитку печінкової енцефалопатії при КГП.

До спеціальних патернів, які характеризують ЕЕГ-порушення у даного пацієнта, слід віднести надмірну швидку активність, яка представлена домінуючою бета-активністю з амплітудою понад 50 мкВ (референтні відведення). Регіональне посилення бета-активності класифікується як асиметрія (наприклад, асиметрія у вигляді посилення бета-хвиль справа в центропарієтальних відділах). При цьому посилення бета-хвиль є неспецифічним феноменом, часто може спостерігатися на фоні прийому препаратів з седативним ефектом (наприклад, «Samug», який передбачався в загальній схемі лікування). Однак дана ЕЕГ-ознака не може розглядатися як патологія, оскільки часто спостерігається також у вигляді сімейної низькоамплітудної бета-хвилі в потиличних відведеннях у здорових людей.

Ще однією ознакою КГП є патерн спалах-пригнічення, який є різновидом періодичного патерну із зменшенням церебральної активності (менше 10 мкВ) між відносно високоамплітудними компонентами. Генералізований спалах-пригнічення спостерігається у людей з аноксичною енцефалопатією. При подальшому значному клінічному погіршенні стану людини цей патерн часто може переходити в електроцеребральну інактивність [27]. Якщо причиною є відомий фармацевтичний засіб, то патерн звичайно зворотній. Якщо ж після відміни таких препаратів як «Samug» патерн продовжує і надалі реєструватися, то можна говорити про несприятливий прогноз медикаментозного чи токсичного гепатиту, такий самий, як і при електроцеребральній інактивності. Спалах-пригнічення може реєструватися також тільки в одній півкулі, що свідчить про гостре глибоке ураження мозку. У цілому наявність патерну спалах-пригнічення є безперечною ознакою патології, насамперед поразки по типу печінкової

енцефалопатії.

Для криптогенного гепатиту характерні трьох-п'яти секундної спалахи хвиль ритмічних тета-хвиль частотою 4-7 Гц, які асиметрично виникають в скроневих ділянках голови, несподівано зникають і, як правило, зустрічаються в людей у стані дрімоти, що має клінічне значення також при синдромі хронічної втоми [26].

Висновки.

1. Криптогенний гепатит з ознаками холестази проявляється морфологічними змінами гепатоцитів і підтверджується морфометричними показниками, які вказують на зменшення функціонально активної площі печінки внаслідок активації апоптозу.

2. Одночасно зі змінами в гепатоцитах виявляється зменшення площі та периметру еритроцитів та їх деформація, що свідчить про виражену мембранну патологію при криптогенному гепатиті, пов'язану з активацією процесів ПОЛ і пригніченням функціональної здатності САОЗ.

3. Поєднані структурні і морфометричні зміни гепатоцитів та еритроцитів на фоні різкого підвищення рівня CD95+лімфоцитів свідчать про системний апоптоз цих клітин при криптогенному гепатиті.

4. Глибокі порушення функції печінки відображаються на стані нервових центрів головного мозку, що супроводжується наявністю характерних електроенцефалографічних патернів, які свідчать про розвиток печінкової енцефалопатії при криптогенному гепатиті з вираженим внутрішньопечінковим холестазом.

5. Запропонований комплексний підхід у дослідженні гепатоцитів та еритроцитів з поєднаним визначенням активності перекисного окислення ліпідів, функціональної здатності системи антиоксидантного захисту та електроенцефалографічних показників є доповненням для постановки діагнозу в клініці і призначення патогенетично обґрунтованої терапії холестатичних форм хронічних гепатитів.

Перспективним для подальшого вивчення ми вважаємо дослідження динаміки морфологічних, біохімічних та електрофізіологічних змін при хронічних гепатитах для перевірки ефективності патогенетично обґрунтованих схем лікування пацієнтів з хронічним гепатитом.

Література.

1. Баскевич О.В. Стан мембран еритроцитів у людей з розладами психіки і поведінки внаслідок вживання алкоголю / О.В. Баскевич, С.Л. Попель // Регуляторні механізми в біосистемах. – 2017. – Т. 8, № 2. – С. 58–65.
2. Баскевич О.В. Типові порушення організації мембрани еритроцитів при фізичному навантаженні різної інтенсивності в процесі розвитку загальної витривалості організму / О.В. Баскевич, С.Л. Попель // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. , № 2. – С. 122–127.
3. Козинец Г.И. Конфигурация и поверхность

клеток крови в норме и патологии / Г.И. Козинец, З.Г. Шишканова, Ю.К. Новодержкина – Москва: Триада-фарм, 2004. – 171 с.

4. Кручинина М.В. Алкогольное поражение печени: взаимосвязь электрических, вязкоупругих характеристик эритроцитов и структуры их мембраны / М. В. Кручинина, С. А. Курилович, А.А. Громов [и др.] // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 96–102.

5. Васильева Е.М. Биохимические особенности эритроцитов. Влияние патологии / Е.М. Васильева // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 118–126.

6. Кручинина М.В. Особенности параметров эритроцитов у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом / М. В. Кручинина, С. А. Курилович, А.А. Громов [и др.] // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 68–76.

7. Использование оптических методов исследования крови в диагностике стадии заболевания при диффузной патологии печени / М.И. Воевода, М.В. Кручинина, С.Е. Пельтек [и др.] // Архив внутренней медицины. – 2012. – № 4. – С. 46–54.

8. Попель С.Л. Клеточные реакции и система антиоксидантной защиты при длительной гипокинезии / С.Л. Попель, З.В. Дума, О.В. Баскевич // Современные здоровьесберегающие технологии. – 2016. – Т. 4, № 3. – С. 131–140.

9. Рязанцева Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 1. – С. 53–65.

10. Mechanism of changing adaptation potential and morpho-biochemical parameters of erythrocytes in students with different mode of day after physical load / S.L. Popel', V.M. Mytckan, E.Yi. Lapkovskiy [et al.] // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2017. – V. 8, № 2. – P. 66–70.

11. Popel' S.L. Mechanism of platelet and erythrocytes hemostasis damage in rats with prolonged hypokinesia / S.L. Popel', O.V. Kryzaniivskaya, V.M. Zhurakivskiy [et al.] // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2017. – V. 8, № 2. – P. 34–40.

12. Использование компьютерного image-анализа для дифференциальной диагностики гепатоцеллюлярной карциномы и гиперплазии гепатоцитов / Пименова Е.Л., Богатырев В.Н., Чистякова О.В. [и др.] // Клини. и лаб. диагностика. – 2002. – № 8. – С.35–37.

13. Лушников Е.Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е.Ф. Лушников, А.Ю. Абросимов. – М.: Медицина, 2001. – 192 с.

14. Монастирська О.С. Клінічні лабораторні дослідження / О.С. Монастирська. – Вінниця: Нова книга, 2007. – С. 14–35.

15. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко. – 2005. – 520 с.

16. Федорюк О.В. Синдром хронічної втоми і базовий відпочинок людей похилого віку / О.В.

Федорюк // Вісник Прикарпатського університету. Серія: Фізична культура. – 2013. – № 18. – С. 281–287.

17. Щербинина М.Б. Диагностические возможности и реальное использование в клинике пункционной биопсии печени / М.Б. Щербинина, И.В. Баринов, И.Я. Будзак // Сучас. гастроентерол. – 2004. – № 3. – С. 27–31.

18. Adam R. Fatal Hepatitis C in a Renal Transplant Recipient on Immunosuppression: Fibrosing Cholestatic Hepatitis of Clinical and Experimental Hepatology / R. Adam, D. Vittecoq, D. Castaing [et al.] // Clinical Transplantation. – 2012. – V. 2, № 2. – P. 199–212. doi.org/10.1016/s0973-6883(12)60114-5

19. Case Report of Successful Treatment of Fibrosing Cholestatic Hepatitis C with Sofosbuvir and Ribavirin after Liver Transplantation in Seminars / Anshu Trivedi, Swan Thung, Priya Grewal [et al.] // Liver Disease. – 2014. – V. 34, № 1. – P. 108–112. doi.org/10.1055/s-0034-1371084

20. Cholestatic hepatitis / J. Roderfeld, E. Roeb, S.A. Rizvi [et al.] // Reactions Weekly. – 2015. – V. 1540, № 1. – P. 186–186. doi.org/10.1007/s40278-015-8034-5

21. Clinicopathological Fibrosing Cholestatic Hepatitis Presenting as Subacute Hepatic Failure in a Non-transplant Patient in Digestive Diseases and Sciences / A. Duseja, A. Das, Y. K. Chawla [et al.] // Liver Transplantation. – 2009. – V. 54, № 11. – P. 2341–2345. doi.org/10.1007/s10620-009-0878-1

22. Dixon L. R. Early histologic changes in fibrosing cholestatic hepatitis C / L.R. Dixon, J.M. Crawford // Liver Transplantation. – 2007. – V. 13, № 2. – P. 219–226. doi.org/10.1002/lt.21011

23. Histopathologic Distinction Between Fibrosing Cholestatic Hepatitis C and Biliary Obstruction of Surgical Pathology / M. Salomao, C. Verna, E. Lefkowitz [et al.] // Liver Disease. – 2013. – V. 37, № 12. – P. 1837–1844. doi.org/10.1097/pas.0b013e31829b626c

24. Hori M. Fibrosing cholestatic hepatitis in post-transplant adult recipients of liver transplantation / M. Hori // Annals of Gastroenterology. – 2016. – V. 2, № 23. – P. 233–236. doi.org/10.20524/aog.2016.0069

25. Interleukin-28B and fibrosing cholestatic hepatitis in posttransplant hepatitis C: A case-control study and literature review / A. Duarte-Rojo, V. Budhreja, B. Veldt [et al.] // J. Liver Transplantation. – 2013. – V. 19, № 12. – P. 1311–1317. doi.org/10.1002/lt.23733

26. Successful Treatment of Fibrosing Cholestatic Hepatitis Following Kidney Transplantation With Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / L.L. Dong, Fang Jian, Zheng Zhiyong [et al.] // Medicin. – 2015. – V. 94, № 5. – P. 480–485.

27. Therapeutic efficacy of L-ornithine – L-aspartate in fusion in patient with cirrhosis and hepatic encephalopathy: results of a placebo – controlled, double – blind study / G. Kirchies, R. Nilius, C. Held [et al.] // Hepatology. – 1997. – V. 26, № 6. – P. 1351–1360.

УДК: 616.36-002.2

ЭКСКВИЗИТНЫЕ РЕАКЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ КРИПТОГЕННОМ ГЕПАТИТЕ С ВЫРАЖЕННЫМ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНЫМ ХОЛЕСТАЗОМ, ОСЛОЖНЁННЫМ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ

Попель С.Л.¹, Краснополский С.З.², Човганюк О.С.², Мельник И.В.², Маркив Г.Д.³, Барила Н.И.², Островская Л.М.⁴

¹Прикарпатский национальный педагогический университет им. Василя Стефаника
²ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»

³Центральная городская клиническая больница

⁴Обласная клиническая больница г. Ивано-Франковск, Украина

Резюме. В работе приведены особенности структурных и биохимических реакций гепатоцитов и эритроцитов в сочетании с электроэнцефалографическими исследованиями при криптогенном гепатите. Установлено, что криптогенный гепатит с признаками холестаза проявляется морфологическими изменениями гепатоцитов, которые указывают на уменьшение функционально активной площади печени вследствие активации апоптоза и свидетельствует о выраженной мембранной патологии, связанной с активацией процессов перикисного окисления липидов и угнетением функциональной способности системы антиоксидантной защиты. Глубокие нарушения функции печени отражаются на состоянии нервных центров головного мозга, сопровождающегося наличием характерных электроэнцефалографических паттернов, которые свидетельствуют о развитии печеночной энцефалопатии при криптогенном гепатите с выраженным внутрипеченочным холестазом. Предложенный комплексный подход в исследовании гепатоцитов и эритроцитов в сочетании с определением активности процессов перикисного окисления липидов, функциональной способности системы антиоксидантной защиты организма и электроэнцефалографических показателей является дополнением для постановки диагноза в клинике и назначения патогенетически обоснованной терапии холестатических форм хронических гепатитов.

Ключевые слова: криптогенный гепатит, холестаз, электроэнцефалография, перекисное окисление липидов, система антиоксидантной защиты.

UDC: 616.36-002.2

**EXQUISITE REACTIONS OF
ERYTHROCYTES WITH CRYPTOGENIC
HEPATITIS WITH EXPRESSED
INTESTINAL CHOLESTASIS WITH
COMPLICATED ENCEPHALOPATHY**S.L. Popel¹, S.Z. Krasnopolsky², I.V. Melnyk²,
O.S. Chovhaniuk², G.D. Markiv³, N.I. Baryla²,
L.M. Ostrovskaya⁴¹Vasyl Stefanyk Precarpathian National
University²Ivano-Frankivsk National Medical University,
Ukraine.³Central Clinical Hospital⁴Regional Hospital, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Abstract. In the article presents the features of structural and biochemical reactions of hepatocytes and erythrocytes in combination with electroencephalographic studies in cryptogenic hepatitis.

The purpose – to study the structural and biochemical reactions of hepatocytes and erythrocytes in combination with electroencephalographic studies in cryptogenic hepatitis.

At the patient, at the age of 55 years with the diagnosis of cryptogenic hepatitis, electroencephalographic and laboratory examinations were performed with admission to inpatient treatment. Control data were obtained from the same patient 12 months after outpatient treatment.

The patient underwent liver biopsy followed by morphometric analysis of histological sections of 500 mononuclear hepatocytes stained with hematoxylin and eosin, in which the area of the profile of nuclei and cytoplasm, their ratio and the form factor of the hepatocyte and its nucleus were determined. Morpho-functional state of erythrocytes was assessed on smears of Romanovsky-Giemsa stained according to morphometric parameters of the area, perimeter of the profile, the shape factor, and changes in the microrelief of erythrocytes were studied in a scanning electron microscope.

Biochemical indices of lipid peroxidation intensity were determined: primary and secondary lipoperoxidation products, antioxidant enzyme activity: superoxide dismutase, catalase and products of oxidative modification of proteins, as well as transferrin and ceruloplasmin.

In erythrocytes, the ratio of the activity of the antioxidant defense system was evaluated.

To assess the destructive processes in the liver cells, the activity of alanine transferase and aspartate transferase was determined.

Electroencephalographic examination was performed using the diagnostic complex DX-NT in the mode of bispectral analysis with determination of the map of the correlation matrix of dynamic spectra.

It has been established that cryptogenic

hepatitis with signs of cholestasis is manifested by morphological changes in hepatocytes, which indicate a decrease in the functionally active area of the liver due to activation of apoptosis and indicates a pronounced membrane pathology associated with activation of lipid peroxidation processes and inhibition of the functional capacity of the antioxidant defense system. Deep violations of liver function are reflected in the state of the nerve centers of the brain, accompanied by the presence of characteristic electroencephalographic patterns that indicate the development of hepatic encephalopathy in cryptogenic hepatitis with severe intrahepatic cholestasis. It is shown that in the case of cryptogenic hepatitis, the area of erythrocytes decreases with a significant relative morphometric redistribution, as a result of which cells with an area from 35 to 55 μm^2 prevail. The proposed integrated approach in the study of hepatocytes and erythrocytes in combination with the determination of the activity of lipid peroxidation processes, the functional ability of the body's antioxidant defense system and electroencephalographic parameters is a complement to diagnosis in the clinic and the appointment of a pathogenetically grounded therapy for cholestatic forms of chronic hepatitis.

Conclusion: Cryptogenic hepatitis with signs of cholestasis is manifested by morphological changes in hepatocytes, which is confirmed by morphometric indices, which indicate a decrease in the functionally active area of the liver as a result of activation of apoptosis. Simultaneously with changes in hepatocytes, the reduction of the area and perimeter of erythrocytes and their deformation are determined, which indicates a pronounced membrane pathology in cryptogenic hepatitis associated with activation of lipid peroxidation processes and a decrease in the functional capacity of the antioxidant defense system. Combined structural and morphometric changes in hepatocytes and erythrocytes, against a background of a sharp increase in the level of CD95 + lymphocytes, indicate a systemic apoptosis of these cells in cryptogenic hepatitis. The proposed integrated approach in the study of hepatocytes and erythrocytes in combination with the determination of lipid peroxidation activity, the functional capacity of the antioxidant defense system and electroencephalographic parameters is a complement to diagnosis in the clinic and the appointment of a pathogenetically grounded therapy for cholestatic forms of chronic hepatitis.

Key words: cryptogenic hepatitis, cholestasis, electroencephalography, lipid peroxidation, antioxidant defense system.