

С.В. Морозов, В.Т. Долгих, В.Л. Полуэктов

АКТИВАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ — ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПОЛИОРГАННОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия

Авторами на основании результатов клинико-экспериментальных исследований при остром панкреатите установлено, что в основе прогрессирования заболевания лежит активация процессов перекисного окисления липидов при недостаточности ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы. Истощение адаптационных возможностей организма сопровождается нарастанием тяжести эндогенной интоксикации и нарушением деятельности всех основных жизненно важных органов и систем. Доказана ключевая роль недостаточности тканевых антиоксидантов в развитии синдрома полиорганной дисфункции. Естественный биоантиоксидант глутатион рассматривается как один из маркеров эндотоксикоза, прогрессирующее снижение которого является неблагоприятным прогностическим фактором в течении острого панкреатита.

Ключевые слова: острый панкреатит, перекисное окисление липидов

Неудовлетворительные результаты лечения и высокий уровень летальности при тяжелых формах острого панкреатита во многом определяются сложным и недостаточно изученным патогенезом [7, 8, 13, 14, 15]. Недостаточно изученным звеном острого панкреатита является оценка значимости активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и недостаточности антиоксидантной системы (АОС), а также органов естественной детоксикации организма в патогенезе этого заболевания, что во многом определяет прогноз [1, 16, 19]. О роли усиления процессов ПОЛ и недостаточности АОС в развитии острого панкреатита в литературе встречается много сообщений [3, 4], однако чаще всего это касается эритроцитов. Некоторые авторы отводят ПОЛ в генезе эндогенной интоксикации при остром панкреатите роль ключевого звена, другие утверждают, что определение продуктов ПОЛ, в частности малонового диальдегида, не отражает состояния структурно-функциональных изменений мембраны, объясняя это неспецифичностью метода, а также несоответствием скорости синтеза МДА и величиной его утилизации тканями [6, 12]. Разноречивые данные, касающиеся оценки роли процессов ПОЛ в генезе полиорганной дисфункции при остром панкреатите, свидетельствуют о недостаточной изученности этого вопроса.

Целью исследования явилось клинико-экспериментальное изучение процессов ПОЛ при

остром панкреатите и оценка их роли в развитии и прогнозировании синдрома полиорганной дисфункции.

Методика. Под наблюдением находились 40 больных: 22 мужчины (средний возраст 44,0 года) и 18 женщин (средний возраст 57,3 года). У 20 пациентов диагностирована отечно-интерстициальная форма острого панкреатита, а у 20 — прогрессирующий панкреонекроз, протекавший с симптомами полиорганной недостаточности. Контрольная группа состояла из 10 здоровых лиц того же возраста. Забор крови для биохимических исследований осуществлялся в стадии максимально выраженных нарушений клинико-лабораторных показателей и на 1-2-е сутки после операции. Для оценки интенсивности процессов липопероксидации в эритроцитах определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [11], восстановленного глутатиона [18], активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) [9] и глутатионредуктазы [17], а в сыворотке крови стандартизованным методом исследовали содержание мочевой кислоты, образующейся из ксантина при участии ксантиноксидазы, что сопровождается генерацией супероксидного радикала. Исследования на испытуемых выполнены неинвазивными методами с информированного согласия испытуемых и соответствуют этическим нормам Хельсинкской декларации (2000 г.).

Острые эксперименты проведены на 20 беспородных собаках обоего пола массой 8-16 кг, наркотизированных эфиром. Панкреонекроз вызывали путем интрапаренхиматозного введения аутожелчи в 3-5 точках, по 0,6-0,8 мл в каждую точку [2]. Животные были разделены на 3 группы: 10 здоровых животных (I группа), 5 собак с панкреонекрозом выводили из эксперимента через 12 часов после моделирования панкреонекроза (II группа), а 5 собак — через 24 часа (III группа). Прижизненно для биохимических исследований забирали в жидкий азот кусочки печени, почки, легких, поджелудочной железы и кровь. Затем готовили гомогенаты, в которых теми же методами, что и в клинике, исследовали содержание восстановленного глутатиона, МДА, мочевой кислоты и активность Г-6-ФДГ и глутатионредуктазы. Полученные результаты обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Результаты и обсуждение. Как следует из таблицы 1, у больных с отечно-интерстициальным панкреатитом содержание МДА в эритроцитах оказалось достоверно ниже контроля. Вероятно, развитию окислительного стресса и накоплению продуктов ПОЛ препятствует сложный многокомпонентный механизм антиоксидантной защиты, который превращает радикалы в малоактивные продукты. В системе защиты клеток от активных метаболитов кислорода важное место отводится глутатионзависимым ферментам, а также самому глутатиону. Сохранение высокого уровня восстановленного глутатиона связано с развитием метаболических перестроек, направленных на усиление как биосинтеза глутатиона *de novo*, так и на увеличение эффективности восстановления образующегося в результате глутатионпероксидазной и глутатион-S-трансферазной реакции глутатиондисульфида. Они могут способство-

вать повышению резистентности панкреатитов к повреждению, предотвращая развитие деструктивной формы острого панкреатита. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы оказалась соответственно на 81,7 и 54,3% выше контроля.

Одним из пусковых механизмов развития острого панкреатита является, на наш взгляд, интенсификация продукции ксантиноксидазой активных форм кислорода, в частности супероксидных анионрадикалов, в условиях нарушенной микроциркуляции в поджелудочной железе, о чем свидетельствует 6-кратное увеличение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови.

Развитие деструктивной формы острого панкреатита приводит к более значительному росту концентрации мочевой кислоты (в 11,6 раза) по сравнению с контролем. Очевидно, что при развитии панкреонекроза происходит дальнейшее торможение реутилизации гипоксантина в пуриновые мононуклеотиды вследствие дефицита фосфорибозилдифосфата, обусловленного снижением генерации рибозо-5-фосфата в пентозном цикле. Усиленное образование мочевой кислоты сопряжено с повышенной генерацией ксантиноксидазой супероксидных радикалов. Усиление продукции активных форм кислорода приводит к увеличению интенсивности липопероксидации мембранных структур в эритроцитах больных с панкреонекрозом, вследствие чего содержание МДА на 38,7% превышает этот показатель у больных с отечно-интерстициальной формой панкреатита.

Содержание глутатиона в эритроцитах больных с панкреонекрозом на 61,1% ниже одноименного показателя у больных с отечно-интерстициальной формой и контролем, несмотря на активацию ферментативного звена антиоксидантной системы. Можно полагать, что именно недостаточно эффективная активация системы поддержания повышенного уровня глутатиона в клетках, приводящая к резкому истощению его фонда, является одним из факторов, способствующих развитию деструктивного панкреатита.

Таблица 1.

Влияние острого панкреатита на биохимические показатели крови ($M \pm m$)

Изучаемый показатель	Группы обследованных больных		Контроль (n=10)
	Отечно-интерстициальный панкреатит (n=20)	Прогрессирующий панкреонекроз (n=20)	
МДА, мкмоль/мл	7,24±0,14***	11,79±0,09***^^	8,97±0,33
Г-6-ФДГ, мкмоль/(ч·мл)	1,43±0,08***	2,23±0,32***^	0,32±0,02
Мочевая кислота, мкмоль/мл	1,45±0,16***	2,79±0,42***^^	0,24±0,02
Глутатион, мкмоль/мл	0,94±0,04^^	0,37±0,06***	0,95±0,12
Глутатионредуктаза, кмоль/(ч·мл)	1,66±0,09***	2,56±0,56**	0,76±0,06

Примечание. ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ по отношению к контролю. ^ — $P < 0,05$; ^^ — $P < 0,001$ между группами больных панкреатитом.

Таблица 2

Метаболические нарушения в органах при панкреонекрозе у собак ($M \pm m$)

Изучаемый показатель	Группы животных	Объект исследования			
		Поджелудочная железа	Печень	Почки	Легкие
МДА, мкмоль/г	I	2,58±0,08	0,57±0,10	1,66±0,26	3,15±0,05
	II	2,97±0,08**	1,15±0,06***	1,89±0,33	5,14±0,08
	III	3,84±0,07***^^	1,26±0,06***	2,83±0,28**^	4,57±0,10***^^
Глутатион, мкмоль/г	I	0,56±0,01	0,85±0,02	0,58±0,04	0,30±0,01
	II	0,56±0,05	0,68±0,05**	0,64±0,08	0,27±0,03
	III	0,48±0,03*	0,80±0,10	0,50±0,04	0,36±0,01***^^
Г-6-ФДГ, мкмоль/(ч·г)	I	0,97±0,03	1,54±0,08	1,04±0,04	0,86±0,03
	II	1,28±0,30	1,59±0,30	1,08±0,06	0,88±0,10
	III	0,50±0,04***^	1,05±0,10**	0,91±0,06	0,53±0,05***^^
Мочевая кислота, мкмоль/г	I	60±4,0	378±42	237±36	330±20
	II	75±2,7***	671±19***	161±26	374±19
	III	68±2,0^	604±26***	137±12*	405±27*

Примечание. * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ по отношению к контролю. ^ — $P < 0,05$; ^^ — $P < 0,01$; ^^ — $P < 0,001$ между II и III группами.

Таблица 3

Изменения биохимических показателей крови собак при панкреонекрозе ($M \pm m$)

Изучаемый показатель	Контроль I группа (n=10)	Панкреонекроз II группа (n=5)	Панкреонекроз III группа (n=5)
МДА, мкмоль/мл	5,8±1,2	10,6±2,1*	13,6±1,9***
Глутатион, мкмоль/мл	0,43±0,04	0,38±0,02	0,38±0,01
Мочевая кислота, мкмоль/мл	40,5±5,1	35,0±2,8	93,0±5,1***^^
Лактат, мкмоль/мл	1,73±0,06	2,30±0,30	1,90±0,10

Примечание. * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ по отношению к контролю. ^ — $P < 0,05$; ^^ — $P < 0,01$; ^^ — $P < 0,001$ между II и III группами.

При истощении адаптационных возможностей организма развивается окислительное повреждение органов и тканей. Течение панкреонекроза сопровождается прогрессирующим процессом аутолиза ткани поджелудочной железы, нарастанием тяжести эндогенной интоксикации и нарушением деятельности всех основных жизненно важных органов и систем с развитием синдрома полиорганной недостаточности.

С целью уточнения патогенетических факторов прогрессирования острого панкреатита изучено содержание МДА и состояние антиоксидантной системы в тканях органов естественной детоксикации организма исходно, через 12 и 24 час после воспроизведения острого панкреатита. Как следует из таблицы 2, содержание МДА в гомогенатах всех исследуемых органов контрольных животных оказалось ниже, чем в эритроцитах. В частности, уровень МДА в печени был в 10 раз ниже, чем в эритроцитах, поскольку она является основным продуцентом антиоксидантов, что подтверждается определением исходного уровня глутатиона. Более высокое содержание глутатиона в печени и почках по сравнению с эритроцитами (таблица 3) свидетельствует об их участии в биосинтезе этого антиоксиданта. В поджелудочной железе уровень

глутатиона оказался также выше, чем в эритроцитах; исключение составили легкие, в которых содержание глутатиона оказалось самым минимальным. Активность Г-6-ФДГ также наиболее высока в гомогенатах печени и почек, что свидетельствует об их высокой обеспеченности антиоксидантами.

Через 12 часов после моделирования острого панкреатита (II группа) наблюдалось повышение уровня лактата в эритроцитах на 36,3%, что свидетельствовало о развитии гипоксии, способствующей снижению образования АТФ и усилению катаболизма пуриновых мононуклеотидов, обуславливавшего достоверное увеличение содержания мочевой кислоты через 24 час. Кроме того, отмечалось достоверное повышение МДА во всех исследуемых органах, кроме почек и эритроцитов, что могло быть обусловлено интенсификацией процессов ПОЛ в условиях недостаточности антиоксидантной системы тканей. Содержание глутатиона в поджелудочной железе сохранялось на исходном уровне, несмотря на то, что она относится к органам с низкой антиокислительной активностью. Возможно, это происходило за счет эндогенных резервов и их перераспределения в пользу очага воспаления [10]. Активность Г-6-ФДГ в поджелудочной железе, способствующей редукции

глутатиона из окисленной формы в восстановленную, превышала контроль на 24,2 %.

Вместе с тем содержание глутатиона в печени уменьшилось на 20%, а в эритроцитах — на 11,7%. Можно полагать, что при данной патологии происходит торможение утилизации глутатиона эритроцитами, обусловленное снижением активности глутатионпероксидазы.

Через 24 часа (III группа) отмечалось прогрессирующее увеличение содержания МДА во всех исследуемых органах (таблица 2), что могло быть следствием уменьшения содержания в них глутатиона и угнетения активности Г-6-ФДГ. Максимальный уровень МДА в этот период выявлялся в легких, поскольку в условиях окислительного стресса нарастает метаболическая и детоксицирующая нагрузка на легкие, что приводит к дополнительному повреждению легочной паренхимы и усугубляет уже имеющиеся проявления органной несостоятельности. Характерно, что в эти сроки дефицит глутатиона выявлялся практически во всех исследуемых объектах, кроме печени и легких, что свидетельствовало о снижении мощности антиоксидантной системы. Увеличение содержания в печени глутатиона почти до контрольных значений можно объяснить постоянно протекающим в ней синтезом антиоксидантов как проявление компенсаторной реакции органа на развитие патологического процесса в поджелудочной железе [5]. Повышение концентрации глутатиона в легких выше контрольных значений наблюдалось только через 24 часа после воспроизведения острого экспериментального панкреатита, что также свидетельствует о включении их в компенсаторные процессы, связанные с выработкой и депонированием антиоксидантов.

Заключение. На основании результатов клинических и экспериментальных исследований установлено, что ключевую роль в прогрессировании острого панкреатита и развитии синдрома полиорганной дисфункции играет активация процессов перекисного окисления липидов на фоне недостаточности тканевых антиоксидантов. Естественный биоантиоксидант глутатион можно рассматривать как один из маркеров эндотоксикоза, прогрессирующее снижение которого является неблагоприятным прогностическим фактором в течении острого панкреатита.

ACTIVATION OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES AS A PATHOGENETIC FACTOR OF POLYORGAN DYSFUNCTION DURING ACUTE PANCREATITIS

S.V. Morozov, V.T. Dolgikh, V.L. Poluektov

According to the results of clinico-experimental researches of acute pancreatitis the authors have

found out that in a basis of the disease advance there was an activation of the process of lipoperoxidation under the lack of enzymatic and nonenzymatic segments of antioxidant system. Emaciation of adaptive capability of the body is accompanied by the rising of severity of endointoxication and disorder of all vital parts and systems. The key role of tissular antioxidants lack in the development of the polyorgan dysfunction syndrome is demonstrated. Natural bio-antioxidant glutathione is regarded as one of the endotoxemia markers which progressive decrease is an unfavorable predictor during acute pancreatitis.

Литература

1. Брискин Б.С. // РЖГГК. — 2005. — № 1. — С. 50-58.
2. Буянов В.М., Стутин И.В., Езиев В.Н. и др. // Клин. хирургия. — 1989. — № 11. — С. 24-26.
3. Веронский Г.И., Штофин С.Г., Попов А.И. // Материалы III конференции хирургов-гепатологов. — СПб., — 1995. — С. 313-315.
4. Вискунов В.Г. Панкреонекрозы (патогенетическое обоснование диагностики, лечебной тактики и профилактики): Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / В.Г. Вискунов. — Новосибирск, 1996. — 28 с.
5. Владимиров В.Г. Острый панкреатит. Экспериментально-клинические исследования / В.Г. Владимиров, В.И. Сергиенко. — М., 1986. — С. 88.
6. Власов А.П., Герасименко А.В., Тарасова Т.В. и др. // Материалы IX конференции хирургов-гепатологов России и стран СНГ. — СПб., 2002. — С. 193-194.
7. Иванов Ю.В. // Фарматека. — 2005. — № 4/5. — С. 72-76.
8. Кузнецов Н.А., Родоман Г.В., Бортвейн А.Т. и др. // Хирургия. — 2005. — № 3. — С. 36-39.
9. Мильман Л.С. Методы биологии развития / Л.С. Мильман, Ю.Г. Юровицкий, Л.П. Ермолаева; под ред. Б.Л. Асотурова. — М., 1974.
10. Прокопьева Н.В. Исследование системы метаболизма ксенобиотиков в печени при остром панкреатите: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Н.В. Прокопьева. — Новосибирск, 2000. — 27 с.
11. Стальная И.Д., Гаршвили Т.Г. // Современные методы в биохимии. — М., 1977. — С. 66-68.
12. Тарасенко В.С. Острый деструктивный панкреатит. Некоторые аспекты патогенеза и лечения: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / В.С. Тарасенко. — Оренбург, 2000. — 48 с.
13. Филимонов М.И., Бурневич С.З., Куликов В.М. и др. // Анналы хирургии. — 2004. — № 5. — С. 29-32.
14. Bruno M.J. // Scand. J. Gastroenterol. — 2001. — Vol. 36. — Suppl. 234. — P. 103-108.
15. Colyi W.J., Pineau B.C., Tamasky P.R. et al. // Endoscopy. — 2002. — Vol. 34. — № 8. — P. 617-623.
16. Manes G., Rabitti P., Menchise A. et al. // Pancreas. — 2003. — Vol. 27. — № 4. — P. 79-83.
17. Racker E. // J. Biol. Chem., 1955. — Vol. 217. — № 2. — P. 855-865.
18. Sedlak S., Lindsey R.H. // Analyt. Biochem. — 1968. — Vol. 25. — № 2. — P. 192-205.
19. Tsai K., Wand S., Chen T. // Gut. — 1998. — Vol. 42. — P. 850-855.