

УДК: 616.24-002-07

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ПЛЕВРАЛЬНОГО ВЫПОТА

И.А. Пискунова, С.Д. Леонов

ГОУ ВПО СГМА Росздрава, кафедра факультетской терапии

Резюме

Обследовано 18 пациентов, имеющих плевральный выпот: 10 пациентов с парапневмоническим плевритом и 8 пациентов с метастатическим плевритом. Были выявлены более выраженные нарушения оксидантного статуса по данным индуцированной хемилюминесценции у больных с парапневмоническим плевритом, проявлявшиеся в более высокой интенсивности процессов свободнорадикального окисления на фоне сниженной общей антиоксидантной активности плевральной жидкости.

Ключевые слова: плевральный выпот, свободнорадикальное окисление, хемилюминесценция.

Summary

18 patients are surveyed: 10 patients with parapneumonic pleurisy, 8 patients with metastatic effusions. The maximal infringements oxidative the status according to induced chemiluminescence were registered at patients with parapneumonic pleurisy, shown in form of high intensity of processes free radical oxidations on background lowered by the general antioxidants activity of pleural effusions.

Keywords: pleurisy, free radical oxidation, chemiluminescence.

Плевральный выпот не является самостоятельным заболеванием, поскольку не обладает необходимыми для любой нозологической формы характеристиками: единой этиологией, общим патогенезом, характерной клинической картиной, для него не существует однозначной специфической терапии. Плевральный выпот – это синдром, который может быть проявлением различных заболеваний. Количество больных с плевральным выпотом среди госпитализируемых в терапевтический стационар колеблется от 4,8 до 10% [9]. Известно более 50 этиологических факторов, ведущих к появлению жидкости в плевральных полостях [4]. По данным Уральского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, структура нозологических форм при плевральном синдроме следующая: туберкулез – 49,6%, пневмония – 17,9%, метастатический рак – 14,9%, мезотелиома плевры – 4,7, другие заболевания – 12,8% [6]. В западных странах около 50% всех вновь выявленных плевритов носит злокачественный характер. Среди причин плевритов, вызванных метастазированием злокачественных опухолей, на первом месте стоит рак легкого (до 75% всех случаев канцероматоза плевры), второе место занимает рак молочной железы [10]. Перед клиницистами всегда возникает вопрос о дифференциальной диагностике выпота в плевральную полость. Несмотря на то что в арсенале врача имеется большой набор лабораторных и инструментальных методов, вопрос дифференциальной диагностики плевральных выпотов остается актуальным. Тщательно собранный анамнез, осмотр больного, данные

лабораторных и рентгенологических исследований, постановка серологических иммунологических и аллергологических тестов не всегда позволяют установить причину возникновения плеврального выпота и часто бывают недостаточными для уточнения его этиологии. Так, результаты крупных исследований, посвященных чувствительности цитологического исследования плевральной жидкости, показывают, что чувствительность варьирует от 40 до 87% со средним значением около 60% [11–13]. Ложноположительный результат цитологического исследования экссудата при туберкулезе, пневмонии, застойном выпоте составляет 1–6%. Чрескожная биопсия плевры имеет огромное значение в диагностике гранулематозных и злокачественных поражений плевры. По сравнению с цитологическим исследованием плевральной жидкости диагностическая эффективность возрастает на 7–27% только для злокачественных поражений плевры [12–14]. Причина плеврального выпота остается невыясненной после повторного цитологического исследования и биопсии плевры примерно в 15% случаев [11]. Плевральный выпот должен быть предметом активных научных исследований для совершенствования его диагностики. В литературе имеются единичные работы, в которых показана зависимость изменений в системе перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в зависимости от этиологии плеврального выпота [5].

Практически любая патология респираторного тракта сопровождается развитием окислительного стресса – это хроническая обструктивная болезнь

легких (ХОБЛ), бронхиальная астма, пневмония, рак легкого, респираторный дистресс-синдром, интерстициальные заболевания легких, саркоидоз, пневмопатии, пневмокониозы и т. д.

По сравнению с другими системами органы дыхания наиболее уязвимы для повреждений, вызываемых окислительным стрессом, что связано с их анатомо-физиологическими особенностями. Респираторный тракт обладает наибольшей площадью контакта с экзогенными оксидантами – атмосферным кислородом и загрязнителями воздуха (озоном, оксидами азота, серы и углерода, компонентами выхлопных газов, табачного дыма и т. д.). Эндогенная генерация оксидантов в легких связана с высоким содержанием в сурфактанте и мембранах клеток респираторного тракта ненасыщенных жирных кислот, которые легко вступают в процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Свою лепту вносят также оксиданты циркулирующей крови и активные формы кислорода, генерируемые клетками респираторного тракта при воздействии различных активаторов (поллютантов, микроорганизмов, иммунных комплексов и др.) [7–8].

К активным формам кислорода (АФК) относятся свободные радикалы (пероксид водорода, гипохлорит, кислородные радикалы – супероксид и гидроксил). Живые организмы располагают системой антиоксидантной защиты, которая поддерживает концентрацию АФК на безопасном уровне. Эту многокомпонентную систему представляют антиоксидантные ферменты – супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидазы, пероксиредоксины и др.; низкомолекулярные антиоксиданты – глутатион, цистеин, рибоза, аскорбиновая кислота, коферол, каротиноиды, биофлавоноиды и др.; белки, связывающие ионы металлов переменной валентности (в первую очередь железа – ферритин, трансферрин). При патологических состояниях одним из основных проявлений окислительного стресса становится лавинообразное нарастание генерации АФК при недостаточности антиоксидантной защиты, что приводит к развитию различных повреждений. АФК (в основном радикал гидроксила, пероксинитрит и гипохлорит) способны вызывать необратимые изменения важнейших компонентов клеток – белков, липидов, нуклеиновых кислот. Окислительная модификация белков придает им антигенные свойства, а перекисное окисление липидов (в первую очередь арахидоновой кислоты) усиливает выработку хемоаттрактантов с миграцией фагоцитов к зоне их образования. Активация фагоцитов обладает свойством самопроизвольно усиливаться, и в очагах воспаления может сформироваться порочный круг. Таким образом, эскалация окислительного стресса всегда сопряжена с развитием воспалительных изменений при заболеваниях респираторного тракта [8]. Реакция цепного окисления

липидов играет исключительную роль в клеточной патологии, следует остановиться на ее механизме. Она протекает в несколько стадий, которые получили название инициирование, продолжение, разветвление и обрыв цепи.

Инициирование цепи: радикал гидроксила, будучи небольшой по размеру незаряженной частицей, способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (которые принято обозначать как LH), входящими в состав биологических мембран и липопротеидов плазмы крови. При этом в липидном слое мембран образуются липидные радикалы: $\text{HO}\cdot + \text{LH}\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{L}\cdot$. Липидный радикал ($\text{L}\cdot$) вступает в реакцию с растворенным в среде молекулярным кислородом; при этом образуется новый свободный радикал – радикал липоперекиси ($\text{LOO}\cdot$): $\text{L}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}\cdot$. Продолжение цепи: радикал $\text{LOO}\cdot$ атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида $\text{LOOH}\cdot$ и нового радикала $\text{L}\cdot$. Чередование двух последних реакций как раз и представляет собой цепную реакцию перекисного окисления липидов. Разветвление цепи: существенное ускорение перекисации липидов наблюдается в присутствии небольших количеств ионов двухвалентного железа. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия Fe^{2+} с гидроперекисями липидов $\text{Fe}^{2+} + \text{LOOH}\cdot \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}\cdot + \text{LO}\cdot$. Образующиеся радикалы $\text{LO}\cdot$ иницируют новые цепи окисления липидов $\text{LO}\cdot + \text{LH}\cdot \rightarrow \text{LOH}\cdot + \text{L}\cdot$; $\text{L}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}\cdot \rightarrow$ и т. д. Обрыв цепей: в биологических мембранах цепи могут состоять из десятка и более звеньев. Но в конце концов цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности (например, теми же Fe^{2+}) или друг с другом: $\text{LOO}\cdot + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ \rightarrow \text{LOOH}\cdot + \text{Fe}^{3+}$; $\text{LOO}\cdot + \text{InH}\cdot \rightarrow \text{In}\cdot + \text{LOOH}\cdot$; $\text{LOO}\cdot + \text{LOO}\cdot \rightarrow$ молекулярные продукты + фотон [1–3].

Последняя реакция интересна еще и тем, что она сопровождается свечением (хемилюминесценцией). Интенсивность этой хемилюминесценции (ХЛ) очень мала, поэтому ее иногда называют сверхслабым свечением. Низкая интенсивность собственной хемилюминесценции [3] оказалась главным и пока непреодоленным препятствием на пути к ее широкому использованию в аналитических целях. Значительное распространение получило, однако, измерение хемилюминесценции в присутствии определенных соединений, которые в отечественной литературе называют активаторами, а за рубежом усилителями (enhancer) хемилюминесценции.

Материалы и методы

На базе пульмонологического отделения МЛПУ КБ № 1 было обследовано 18 пациентов в возрасте от 43 до 77 лет: 13 мужчин (72%) и 5 женщин (28%). Пер-

вая группа – 10 пациентов имели диагноз пневмония, осложненная экссудативным плевритом: 9 мужчин и 1 женщина. Средний возраст – $57,9 \pm 17,02$. Вторая группа – 8 пациентов имели диагноз метастатический плеврит: 4 мужчин и 4 женщины. Средний возраст – $61,62 \pm 8,03$. Из них у четырех пациентов был выявлен центральный рак правого легкого, 1 пациент – периферический рак правого легкого, 2 пациента – рак неуточненной первичной локализации, 1 пациентка – рак молочной железы.

Пациентам были выполнены общеклинический диагностический алгоритм: общий анализ крови, рентгенологическое исследование, фибробронхоскопия, компьютерная томография, пациенты с раком легкого имели гистологическое подтверждение диагноза. При исследовании плевральной жидкости выполнялось биохимическое и цитологическое исследование. У пяти пациентов (62%) при исследовании плевральной жидкости были выявлены атипичные клетки. Наряду с общеклиническими методами исследования была выполнена оценка показателей свободнорадикального окисления методом хемилюминесценции при параллельном исследовании сыворотки крови и плевральной жидкости.

Кровь из локтевой вены забирали утром натощак. Для получения плевральной жидкости больным проводилась плевральная пункция. Кровь и плевральная жидкость подвергались центрифугированию в течение 15 мин при 1500 об/мин. Для инициации перекисного окисления липидов в исследуемый материал

0,1 мл биожидкости и 0,2 мл фосфатного буфера (pH 7,4, помещенный в темную камеру люминометра, вводили на 1-м цикле 0,05 мл двухвалентного железа и на 7-м цикле исследования 0,1 мл 3% раствора H_2O_2 с регистрацией индуцированной хемилюминесценции в течение 20 циклов. Определяли величину общей светосуммы ($S_{общ}$ (усл. ед.), измеренную в течение всех 20 циклов величины светосуммы под восходящими и нисходящими углами первого пика ($Tg_{вос}$, $Tg_{нис}$), амплитуду индуцированной хемилюминесценции (F_{max}), и отношение амплитуды индуцированной хемилюминесценции плевральной жидкости и сыворотки крови F_{pl}/F_{sv} .

Результаты

Известно, что амплитуда индуцированной хемилюминесценции (F_{max}) в большей мере зависит от содержания в биологическом материале легкоокисляемого субстрата – полиненасыщенных жирных кислот. Величина светосуммы показывает обратно пропорциональную зависимость от содержания в биожидкости антиоксидантов [9]. Величину общей светосуммы индуцированной хемилюминесценции можно воспринимать как показатель общей антиоксидантной активности сыворотки крови. Анализ полученных данных не выявил в данном исследовании достоверных различий при исследовании сыворотки крови в системе перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности у больных с метастатическим плевритом и у больных с пневмонией, осложненной плевральным выпотом $p > 0,05$ (табл. 1).

Таблица 1. Показатели индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови

Группы	Показатели индуцированной хемилюминесценции			
	F_{max} (пик ИХЛ, усл. ед.)	Tg под (Tg восходящего угла усл. ед.)	Tg спад (Tg нисходящего угла усл. ед.)	Собщ (S светосумма общ усл. ед.)
1-я (n=10)	$4046 \pm 1030,95$	$181,00 \pm 51,82$	$72,50 \pm 29,50$	$730084,50 \pm 17769,06$
2-я (n=8)	$4889,0 \pm 609,99$	$217,0 \pm 60,04$	$108 \pm 26,18$	$80186,50 \pm 609,99$

В то время как при исследовании плевральной жидкости было выявлено достоверное различие интенсивности перекисного окисления липидов и сво-

боднорадикального окисления у больных с пневмонией, осложненной экссудативным плевритом, и у больных с метастатическим плевритом (табл. 2).

Таблица 2. Показатели индуцированной хемилюминесценции плевральной жидкости

группы	Показатели индуцированной хемилюминесценции			
	F_{max} (пик ИХЛ, усл. ед.)	Tg под (Tg восходящего угла усл. ед.)	Tg спад (Tg нисходящего угла усл. ед.)	Собщ S светосумма общ усл. ед.
1-я (n=10)	$4909,60 \pm 855,14$	$224,00 \pm 43,13$	$105,00 \pm 35,01$	$58694,00 \pm 14039,92$
2-я (n=8)	$3476,00 \pm 157,67$	$169 \pm 14,499$	$76,50 \pm 1,12$	$44455,00 \pm 2814,25$

Высокая интенсивность процессов свободнорадикального окисления (достоверно более высокие показатели пика индуцированной хемилюминесценции (F_{max}) и светосуммы восходящего угла $Tg_{под}$)

$p < 0,05$ и низкая общая антиоксидантная активность (достоверно более высокие параметры $Tg_{спад}$ и $S_{общ}$) $p < 0,05$. Отношение F_{pl}/F_{sv} в первой группе составило $1,25 \pm 0,27$, во второй группе $F_{pl}/F_{sv} = 0,74 \pm 0,102$.

При исследовании соотношения F_{pl}/F_{sv} также выявлено достоверное различие $p < 0,001$.

Выводы

Полученные в ходе пилотного исследования данные о содержании показателей ПОЛ-АОЗ в различных биологических субстратах у больных с плевральными выпотами различного генеза свидетельствуют

о перспективности дальнейшего исследования данных показателей у пациентов, имеющих плевральный выпот, для решения вопроса об использовании в качестве лабораторных маркеров, применяемых в диагностических, прогностических целях и при оценке результатов проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах. Соросовский образовательный журнал. – 2000. Т. 6 № 12 с 13–19.
2. Владимиров Ю.А. Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. Успехи биологической химии. 2009 т. 49 с 341–388
3. Владимиров Ю.А. Электронный парамагнитный резонанс и хемилюминесценция прямые методы исследования свободных радикалов и реакций, в которых они участвуют. Эфферентная терапия -1999- №4 с 18–27
4. Добровольски С. Р, Белостоцкий А.В Диагностика и лечение экссудативного плеврита. Хирургия 2002 3: 52–57
5. Полунина О. С. Особенности диагностики и течения неспецифических заболеваний легких и плевры у пожилых. Автореф. дис... док мед наук. Волгоград 2007.
6. Соколов Плевриты. Екатеринбург 1998, 237с
7. Соодаева С.К. Роль свободнорадикального окисления в генезе ХОБЛ. Атмосфера 2002; 4: 24–25.
8. С.К. Соодаева, И.А. Климанов. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2009 № 1.с. 34–38.
9. Трубников Г.А, Уклистая Т.А. Диагностика экссудативного плеврита. Клиническая медицина. 1997 № 8 с 62–67
10. Gort C., Restrepo I., Schwerk W.B. Sonography of malignant pleural effusion/ Europ. Radiol/1997 V7 P1195–1198
11. Hirsch A. Pleural effusion: laboratory tests in 300 cases. Thorax 1979; 34: 106–12. [III].
12. Nance K.V., Shermer R.W., Askin F.B. Diagnostic efficacy of pleural biopsy as compared with that of pleural fluid examination. Mod Pathol 1991; 4: 320–4. [III].
13. Prakash U.B., Reiman H.M. Comparison of needle biopsy with cytologic analysis for the evaluation of pleural effusion: analysis of 414 cases. Mayo Clin.Proc. 1985; 60:158–64. [IV].
14. Salyer W.R., Eggleston J.C., Erozan Y.S. Efficacy of pleural needle biopsy and pleural fluid cytopathology in the diagnosis of malignant neoplasm involving the pleura. Chest 1975; 67: 536–9. [IV].

УДК 616.24-036.12-073

ОЦЕНКА БИОРАДИКАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В.Г. Подопрigorova, И.Н. Нанкевич

ГОУ ВПО СГМА Росздрава, кафедра пропедевтики внутренних болезней

Резюме

Исследовались параметры оксидативно-антиоксидантного гомеостаза у больных ХОБЛ в условиях стационара. Выявлено, что обострение ХОБЛ характеризуется развитием дисбаланса в системе оксиданты – антиоксиданты. Степень выраженности его увеличивается по мере нарастания степени тяжести состояния пациентов.

Ключевые слова: ХОБЛ, АФК, свободнорадикальное окисление, оксидативно-антиоксидантные параметры.