

УДК 617-089+616.36+577.1

Н.Дж. Гаджиев

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ, ФИБРОЗНОЙ КАПСУЛЫ И ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ЭХИНОКОККОЗОМ ПЕЧЕНИ

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку

Несмотря на определенные успехи в хирургии эхинококкоза печени (ЭКП), частота послеоперационных осложнений (от 6 до 80 %) и рецидивов (12,4 %) продолжает оставаться высокой [1, 2]. Рост паразита в пораженном органе сопровождается развитием различных структурных и функциональных нарушений, которые существенно повышают риск оперативного вмешательства, поскольку операция проводится на своеобразном патофизиологическом фоне. По мнению ряда авторов [3-5], такие морфофункциональные нарушения являются основными причинами неудач при хирургическом лечении ЭКП.

С другой стороны, структурно-функциональные нарушения клеточных мембран проявляют себя также с изменением скорости перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активация ПОЛ на фоне гипоксии и аутоиммунного воспаления печени с избыточной выработкой активных форм кислорода (АФК) может привести к развитию липидной перекисидации, которая является универсальным механизмом повреждения клеток на уровне мембран, одиночных молекул и тканей органа. Отсюда становится понятным, что для предупреждения осложнений, связанных с оперативным лечением эхинококкоза, одним из важных условий является адекватная коррекция метаболических нарушений, в том числе ПОЛ, в пораженном органе и в целом в организме.

Анализ немногочисленных работ, посвященных изучению состояния ПОЛ - АОЗ (антиоксидантной защиты) при ЭКП [6-8], не позволяет сделать четких выводов о том, какие местные и системные звенья антиоксидантной системы, в какой степени и на какой срок нарушаются, каковы пути их развития и какими способами их можно устранить. В то же время изучение этих вопросов способствовало бы выяснению роли системы ПОЛ - АОЗ в механизме развития эндогенной интоксикации при ЭКП, разработке более адекватных путей коррекции выявленных нарушений и тем самым улучшило бы результаты хирургического лечения.

Цель данной работы - изучение процессов ПОЛ и факторов АОЗ в ткани печени (ТП), фиброзной капсуле (ФК) и эритроцитах крови при ЭКП.

Материалы и методы. Обследовано 24 больных с ЭКП (11 мужчин и 13 женщин) в возрасте от 15 до 68 лет, у которых оценены состояние ПОЛ - АОЗ в крови. У 17 пациентов была неосложненная, у 7 - осложненная форма заболевания (нагноение кисты, цистобилиарные фистулы, прорыв кисты в брюшную полость и др.). Местные показатели в ткани печени и фиброзной капсуле изучены у 15 больных: у 8 - с неосложненной и у 7 - с осложненной формой заболевания.

© Н.Дж. Гаджиев, 2007

Кровь забирали из локтевой вены при поступлении больных. Содержание продуктов ПОЛ и состояние АОЗ в эритроцитах изучали с помощью известных методов [9]. Биопсию печени производили во время операции путем иссечения участка ткани массой 1,5-2 г по ее краю вдали от локализации эхинококковой кисты. Ткань фиброзной капсулы проводили путем краевой ее резекции. Биоптаты отмывали 0,9 %-ным физиологическим раствором и фиксировали в жидком азоте для последующего определения метаболитов ПОЛ и компонентов АОЗ. Липиды из биопсийного материала экстрагировали смесью хлороформ: метанол (2:1) с добавлением 1 мг антиоксиданта дибунола (ионола) на 100 мл смеси. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) определяли по методу И.Д. Стальной [10]. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в биоптатах тканей изучали по методике М. Uchiyama, М. Michara [11], выражали в наномолях на 1 г ткани. Состояние АОЗ оценивали по показателям активности супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), каталазы (КАТ) и концентрации восстановленного глутатиона (GSH). С этой целью биоптаты предварительно гомогенизировали в трис- HCl- буфере (рН 7,4) при 0 °С в гомогенизаторе Поттера-Эльвейема (стекло - тефлон, 5000 оборотов в мин). Активность СОД определяли по методу М. Nishikimi et al. [12] и выражали в условных единицах активности на 1 мг гомогената, а концентрацию ГП определяли по методу R.A. Larence, R.F. Burk [13], выражали в наномолях на 1 мг ткани. Активности КАТ и GSH изучали по методике М.А. Королюк с соавт [14] и G.L. Ellman [15], выражали соответственно в МЕ/г ткани и мкмоль/г ткани.

В связи с отсутствием в изученной литературе данных о нормальных показателях системы ПОЛ - АОЗ в ткани печени, нами изучено состояние антиоксидантного статуса в тканевом материале у 6 лиц, взятом при плановых операциях на желудке путем интра- операционной биопсии, в качестве контроля. Нормальные показатели ПОЛ - АОЗ крови изучены у 19 практически здоровых лиц.

Математическая обработка результатов проведена с использованием методов вариационной статистики и непараметрического критерии Уилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами было обнаружено увеличение содержания продуктов ПОЛ в крови со снижением АОЗ организма у больных ЭКП [6, 7]. В данном исследовании мы поставили цель выяснить, как соотносятся показатели липопероксидации печени, ФК и крови. Нам особенно важным представляется изучение соотношения показателей ПОЛ - АОЗ в печени и крови, так как с точки зрения диагностики и прогноза заболевания, а также для решения тактических вопросов антиоксидантной терапии врачу наиболее доступны показатели крови. Для выяснения межорганных взаимодействий в развитии нарушений процессов липопероксидации эти исследования также являются важными. Результаты представлены в таблице.

Как показывают результаты наших исследований, при ЭКП нарушаются процессы ПОЛ в печени с накоплением высокотоксичных для клеток метаболитов, что связано с гипоксией и иммунным воспалением, развивающимся вследствие токсического действия составляющих компонентов паразитарной кисты, механической компрессии ткани органа, нарушения микроциркуляции. Проведенными исследованиями установлено, что при живом эхинококке в печеночной ткани имеет место иммунновоспалительная реакция на антигены эхинококка, а при II и III периодах жизнедеятельности паразита на фоне печеночного гемо- и лимфостаза развиваются внутripеченочный токсикоз и гипоксия, в результате которых прогрессируют некробиотические альтеративные изменения в гепатоцитах и во всех остальных структурах печени [5]. Как известно, в условиях тканевой гипоксии образуется в избыточном количестве АФК [16-18], который при неполном восстановлении является пусковым фактором цепных свободнорадикальных реакций. С другой стороны, в воспалительном очаге активированные нейтрофилы в процессе фагоцитоза, а также воспаленные ткани образуют перекись водорода, АФК и протеазы, которые, повреждая эндотелий, увеличивают воспалительный ответ [19, 20].

Сравнительная оценка показателей ПОЛ - АОЗ печени, фиброзной капсулы и крови (M±m)					
Показатели		В целом по группе	Больные с неосложненным ЭКП	Больные с осложненным ЭКП	Здоровые люди (контроль)
ДК	ТП, ^h _{233/мг} ткани	4,53±0,38 ***	3,64±0,25 ***	5,56±0,56 ***; # #	1,82±0,14
	ФК, ^h _{233/мг} ткани	2,74±0,12	2,37±0,07	3,16±0,13 # # #	-
	Эр-ты, ^h _{233/мг}	4,86±0,14 ***	4,52±0,11 ***	5,67±0,13 ***; # # #	3,36±0,31
МДА	ТП, нмоль/г ткани	14,35±1,46 ***	9,91±0,51 ***	19,41±1,53 ***; # # #	6,23±0,39
	ФК, нмоль/г ткани	12,65±0,94	10,21±1,03	15,44±0,7 # #	-
	Эр-ты, нмоль/мл	11,73±0,38 ***	10,85±0,21 ***	13,89±0,71 ***; # # #	9,05±0,21
GSH	ТП, мкмоль/г ткани	0,49±0,05 *	0,54±0,06	0,42±0,07 **	0,67±0,05
	ФК, мкмоль/г ткани	0,09±0,01	0,11±0,005	0,06±0,01 # # #	-
	Эр-ты, мкмоль/л	1,61±0,06 ***	1,64±0,07 **	1,54±0,12 **	1,94±0,05
ГП	ТП, нмоль/мин/мг ткани	217,73±13,3 1 ***	201,25±19,11 **	236,57±16,96 ***	132,33±6,07
	ФК, нмоль/мин/мг ткани	98,8±8,93	122,5±10,5	71,71±4,71 # # #	-
	Эр-ты, мкмоль/мин/гHb	407,5±22	465,2±14,8 ***	267,3±17,4 **; # # #	352,6±15,8
КАТ	ТП, МЕ/г ткани	103,2±4,01 ***	92,13±2,7 ***	115,86±4,52 ***; # # #	75,17±3,17
	ФК, МЕ/г ткани	167,02±25,8	241,25±27,7	82,19±6,85 # # #	-
	Эр-ты, МЕ/мг Hb	75,4±2,99	83,6±1,1 ***	55,3±3,8 ***; # # #	75,1±0,4
СОД	ТП, ед/мг ткани	36,27±4,53	49,88±3,98 **	20,71±2,46 **; # # #	33,5±1,98
	ФК, ед/мг ткани	19,7±2,22	25,88±1,21	12,66±2,67 # # #	-
	Эр-ты, МЕ/мг Hb	47,9±1,9	53,3±0,9 ***	34,8±1,7 ***; # # #	44,8±0,2

Примечание. Статистическая значимая разница с показателями 1) контрольной группы: * -p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001; 2) больных с неосложненной формой: # - Pj<0,05; # # - Pj<0,01; # # # - Pj<0,001.

Особый интерес представляет состояние процессов ПОЛ в ФК. Поэтому для полной характеристики состояния ПОЛ важны показатели, характеризующие этот процесс с разных сторон (см. таблицу). Уровень ДК и МДА в ТП в контрольной группе ниже таковых в эритроцитах крови у здоровых лиц. Такой низкий по сравнению с кровью уровень метаболитов ПОЛ может быть связан с более высоким содержанием факторов АОЗ в тканевых структурах, чем в крови. Изучение содержания ДК показало, что их уровень в целом в группе в ТП и эритроцитах намного выше - в 2,49 раза и 44,5 % (p<0,001) соответственно по сравнению с нормой. При осложненных формах ЭКП содержание ДК в эритроцитах и ТП на 25,4 % (p1<0,001) и 52,8 % (p1<0,01) соответственно больше по сравнению с показателями у больных неосложненной формой заболевания.

Уровень МДА в ТП в целом в группе был в 2,13 раз больше, чем в контрольной. А в эритроцитах содержание его превышало норму на 29,6 % (p<0,001). При осложненном течении ЭКП содержание МДА в ТП на 95,9 % (p1<0,001) было больше, чем при неос- ложненной форме заболевания.

Количество МДА в эритроцитах при осложненном течении заболевания на 28 % было больше (p1<0,001) по сравнению с показателем у больных с неосложненной формой ЭКП.

Исследование метаболитов ПОЛ в эритроцитах крови больных ЭКП показало, что заболевание протекает на фоне интенсификации процессов липопероксидации в эритроцитах (см. таблицу). Сопоставление показателей ДК и МДА в ФК, печени и эритроцитах показывает, что эритроциты характеризуются более низким уровнем содержания, чем в ТП и ФК, а больше всего их в ФК. Наибольшее накопление ДК и МДА в ТП и ФК отражает интенсификацию перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот фос- фолипидов мембран клеточных структур. По- видимому, нарушение микроциркуляции и гипоксия в этих тканях приводят к активной генерации супероксидного аниона. С другой стороны, также дополнительным источником образования в ТП и ФК свободных радикалов может служить иммунное воспаление, а в ФК - еще и гнойное воспаление при осложненной форме ЭКП. Поскольку нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты при фагоцитозе вырабатывают высокотоксичные АФК и на фоне тканевой гипоксии такое дополнительное радикалообразование в принципе еще усиливает повреждение тканей. Активности СОД и ГП в печени при ЭКП на 8,3 и 64,5 % (p<0,001) соответственно превышали данные контрольной группы. В то же время величина GSH в печеночной ткани у больных оказалась значительно ниже - на 26,7 % (p<0,05) аналогичного показателя в контрольной группе.

Активность КАТ в ТП в целом по группе у больных на 37,3 % (p<0,001) было больше, чем показатели контрольной группы. При осложненной форме заболевания активность ГП и КАТ в ТП достоверно больше, чем при неосложненной форме. Величина GSH и СОД при осложненной форме заболевания в ТП было недостоверно ниже, чем при неосложненной ЭКП.

Активность антиоксидантных ферментов (СОД и КАТ) и содержание GSH в ФК были низкими в целом по группе, а также при обеих формах течения заболевания. Уровень ГП в ФК при неосложненном течении заболевания был наиболее высоким.

Активность СОД, ГП и КАТ в эритроцитах больных была недостоверно высокой по сравнению с аналогичными показателями у здоровых людей. При неосложненных формах ЭКП активности этих ферментов значительно высокие, наоборот, у больных с осложненной формой показатели их значительно ниже по сравнению с неосложненными формами. Наоборот, в целом по группе уровень GSH в эритроцитах достоверно (p<0,001) ниже в сравнении с нормальным показателем. При осложненной форме заболевания уровень GSH был все еще ниже показателя неосложненной формы ЭКП.

Сопоставление активности антиоксидантных ферментов в изучаемых тканях показало, что их сравнительно мало в ФК.

По нашему мнению, высокая активность СОД говорит о чрезмерном образовании в ФК и ТП супероксидного анион-радикала, который является необходимым субстратом для данного фермента. Но здесь необходимо учесть, что в таких ситуациях имеет место и мобилизация ресурсов АОЗ, т. е. это можно расценить как компенсаторную реакцию клеточных структур.

Снижение количества GSH можно оценить как лимитирующий фактор для проявления активности ГП. Повышение активности КАТ в ТП и ФК, по нашему мнению, связано с компенсаторной реакцией АОЗ, который выполняет защитную функцию клеток от повреждающего действия перекиси водорода. Сравнительный анализ изучаемых показателей ПОЛ в тканях показал четкую взаимосвязь между формами заболевания и состоянием АОЗ: при осложненных формах эхинококкоза показатели антиоксидантного статуса были ниже, а уровень липоперекисных метаболитов выше (см. таблицу).

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали однотипную направленность изменения ПОЛ в фиброзной капсуле, печени и крови, проявляющуюся в повышении уровня продуктов липопероксидации с одновременным уменьшением анти- оксидантного статуса.

В заключение можно сделать следующие выводы:

1. При ЭКП в ФК, печени и крови наблюдаются однотипные изменения в системе ПОЛ - АОЗ, что является показателем нарушения антиоксидантного статуса на органном и организменном уровнях.
2. При осложненных формах заболевания отмечается одновременное увеличение концентрации липоперекисных метаболитов в печени и в крови, и это показывает, что процессы ПОЛ крови отражают таковые в печени.
3. На основании изменения показателей ПОЛ крови у больных ЭКП можно судить о состоянии этих процессов в ткани печени, что является важным для прогноза заболевания и проведения антиоксидантной терапии.

Summary

Hadgyev N.J. Value of lipid peroxidation level in liver, fibrous capsule and erithrocites at the patients with liver echinococcosis.

The investigation results in compairing between the local lipid peroxidation (LPO) and antioxidant defence (AD) indices level at liver tissues (LrT), fibrous capsule (FC) and the systematic indices level in erithrocites of patients with liver echinococcosis (LrE) are introduced. Antioxidant status of 24 patiens (17 not complicated, 7 complicated forms) with LrE was evaluated at the preoperational period in blood. Local indices are investigated at 15 patients (8 not complicated, 7 complicated) in liver tissue samples and fibrous capsule. Compairing AOD indices activity revealed that they are fewer than POL activity products in blood erithricites. Disbalances in POL-AOD were dependent on the form of the disease: the antioxidant status of complicated forms of LrE disease was lower than lipoperoxidation products level. There are strict changes in antioxidant status at organ and organism level and POL indices reflect such changes in liver.

Key words: echinococcosis, liver, fibrous capsule, lipoperoxidation, antioxidants.

Литература

1. *Камолов М.М.* Диагностика и клиническое значение различных морфологических модификаций эхинококкоза печени: Автореф. дисс.... канд. мед. наук. СПб., 2006. 22 с.
2. *Нечитайло М.Е., Буланов Н.И., Черинт В.В.* и др. Хирургическое лечение эхинококкоза печени // Анн. хир. гепатол. 2001. Т. 6. № 1. С. 40-46.
3. *Джафарли Р.Э., Агаев Р.М., Мамедов Р.М.* Влияние озона на ультраструктурные изменения в печени при эхинококкозе // Ёяррашийя (Хирургия, Баку). 2006. № 2. С. 21-29.
4. *Ёседов Э.М., Хамидова Х.А., Шахназарова Х.А.* Клиническая и морфофункциональная характеристика гидатидозного эхинококкоза печени // Терапевтич. архив. 2002. № 11. С. 50-55.
5. *Ёседов Э.М., Хамидова Х.А.* Клинико- лабораторные и морфологические параллели при эхинококкозе печени // Клинич. медицина. 2005. № 2. С. 46-49.
6. *Гаджиев Н.Дж., Ниязова Н.К.* Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крови у больных эхинококкозом печени и легких // Матер. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию проф. Н.Л. Эфендиева. Баку, 2004. С. 100-101.
7. *Гаджиев Н.Дж.* Перекисное окисление липидов у больных эхинококкозом печени // Саьламлыг (Здоровье, Баку). 2006. № 5. С. 50-55.
8. *Agayev R.M.* et al. The prognosis and prophylaxis of infections-inflummatory postoperative complications in the surgery of hepatic echinococcosis // Abstracts of IX international euroasian congress of surgery and gastroenterology. Baku, 2006. P. 166.
9. *Горячковский А.М.* Клиническая биохимия. Одесса, 1998. 608 с.
10. *Стальная И.Д.* Метод определения диеновых конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 63-64.
11. *Uchiyama M., Michara M.* Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Analyt. Biochem. 1978. Vol. 86. P. 271-278.
12. *Nishikimi M., Rao N, Jagi K.* The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulphate and molecular oxygen // Biochem. Biophys. Res. Commin. 1972. Vol. 46. № 2. P. 849-854.
13. *Larence R.A., Burk R.F.* Species, tissuc and subcellular distribution of non se-dependent glutathione-peroxidase activity // J. Nutr. 1978. Vol. 108. № 2. P. 211-215.
14. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* Метод определения активности каталазы // Лабор. дело. 1988. № 1. С. 16-19.
15. *Ellman G.L.* Tissue sulphhydryl groups // Biochem. Biophys. 1959. Vd. 82. № 1. P. 70-77.
16. *Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В.* Ан- тиоксидантная терапия в клинической практике. СПб., 2003. 128 с.
17. *Lefer D., Grander D.* Oxidative stress and cardiac disease // Amer. J. Med. 2000. Vol. 109. P. 315-323. **18. Schoonover L.L.** Oxidative stress and the role antioxidants in cardiovascular risk rediction // Prog. Cardiovasc. Nurs. 2001. Vol. 16. P. 30-32.
19. *Васильков В.Г., Шикунова Л.Г., Колина Н.Ю., Безручко Н.В.* Роль нарушений антиоксидантного статуса организма в формировании синдрома эндогенной интоксикации у больных в токсической и терминальной стадиях перитонита // Анест. и реаниматол. 2001. № 6. С. 31-34.
20. *Giakoustidis D., Papageorgiu G., Iliadis S.* et al. The protective effect alpha-tocopherol and GdCl (3) against hepatic ischemia // Surg. Today. 2006. Vol. 36. P. 450-456.

Статья принята к печати 21 февраля 2007 г.

