

© Коллектив авторов, 2006
УДК: 616.37-002:616.127

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

П.С. Филипенко, Г.С. Ивченко, Г.В. Потапов
Ставропольская государственная медицинская академия

Повышение уровня свободнорадикальных продуктов кислорода в плазме крови в основном является следствием интенсификации процессов, их генерации в тканях. Активные формы кислорода могут по ионным каналам или путем простой диффузии поступать из клеток в плазму, экстрацеллюлярное пространство [1]. Интенсивность этого процесса зависит не только от скорости генерации активных форм кислорода в клетках, но и от состояния антиоксидантной системы плазмы крови. Механизм действия антиоксидантной защиты плазмы крови может реализоваться путем снижения уровня генерируемых активных форм кислорода, либо образовавшихся радикалов за счет обрыва цепей свободнорадикальных реакций с неспецифической ферментной (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза) и неферментной (глутатион) системами [2]. В литературе имеются единичные указания на изменение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при остром панкреатите (ОП) [3]. В связи с этим нами изучена антиоксидантная редокс-система глутатиона и ее роль в механизмах детоксикации образующихся органических продуктов ПОЛ при остром панкреатите.

Материал и методы. Объектом исследования служила плазма крови 48 больных различными формами ОП. Больные были разделены на 2 группы: в первую группу вошли 36 больных с отечной формой острого панкреатита, во вторую группу 12 больных с панкреонекрозом. Контролем служила плазма крови 21 здорового донора. Кровь для исследования брали шприцем, смоченным гепарином (5000 Ед/мл), в день поступления в стационар и при выписке. Образцы крови охлаждали жидким азотом и хранили до исследования в герметично закупоренных флаконах при температуре -75°C . Перед исследованием кровь размораживали в холодильнике

при температуре -4°C . Форменные элементы отделяли центрифугированием при 1000g, 15 минут. Часть крови отбирали во флаконы, не содержащие гепарин, для определения глутатиона.

Диеновую конъюгацию (ДК) ненасыщенных жирных кислот в плазме крови определяли по методу И.Д. Стальной с учетом рекомендаций М. А. Волчегорского с соавт. [4,7] для исключения влияния гемоглобина и других веществ нелипидной природы на результаты реакции. Малоновый диальдегид (МДА) определяли по методу И.Д. Стальной, Г.Г. Гарчишвили [6]. Концентрацию продуктов ПОЛ пересчитывали на суммарные липиды по методу Н.П. Тарановой и Л.В. Говоровой [8]. Активность глутатионпероксидазы (ГПО - кф 1.11.1.9.) определяли по методу D.R. Paglia и W.N. Valentine [10], глутатионредуктазы (ГР - кф 1.6.4.2.) по методу E. Conn и W. Wanneslend. Глутатион и его фракции определяли по D.E. Paglia и W.N. Valentine [10], выражали в нмолях на 1 мг белка.

Результаты и обсуждение. Исследуя плазму крови больных с отеком поджелудочной железы (ПЖ) в остром периоде заболевания, мы обнаружили значительное увеличение концентрации первичных продуктов ПОЛ - ДК с $75,503 \pm 0,609$ у доноров до $119,075 \pm 1,05$ ммоль/мг общих липидов ($p < 0,001$). Наряду с увеличением ДК в плазме крови возрастает концентрация промежуточных продуктов ПОЛ - МДА, но это увеличение не достоверно ($p < 0,05$). В плазме же крови пациентов с деструктивным процессом в ПЖ в остром периоде заболевания отмечалось нарастание как ДК, так и МДА. Уровень ДК увеличивался с $75,503 \pm 0,609$ (доноры) до $121,54 \pm 2,797$ ммоль/мг общих липидов ($p < 0,001$), а МДА с $0,545 \pm 0,011$ у доноров до $0,778 \pm 0,015$ ммоль/мг общих липидов ($p < 0,001$).

Таким образом, обнаружено, что у больных с отеком ПЖ процесс перекисидации обрывается на стадии зарождения цепей, а у пациентов с деструк-

тивным панкреатитом он заканчивается образованием МДА. Активация процессов пероксидации липидов у больных с отечной формой ОП сопровождается увеличением активности ГПО более, чем в 6 раз - до $432,170 \pm 3,165$ нмоль НАДФН²/мин/мг белка по сравнению с $72,186 \pm 0,869$ у доноров ($p < 0,001$). Для второй группы пациентов была характерна более высокая активность фермента, чем для первой (соответственно $455,62 \pm 4,107$ и $432,17 \pm 3,165$ нмоль НАДФН²/мин/мг белка, $p < 0,01$). Активность ГР возросла у больных с отеком ПЖ в 2,1 раза, а у пациентов с деструктивным процессом в ПЖ уровень фермента повысился в 1,9 раза.

Анализируя показатели глутатиона у доноров, мы обнаружили, что в плазме крови восстановленная форма глутатиона (82,7%) преобладает над окисленной (17,2%).

В остром периоде заболевания у больных 1-й группы с отечной формой ОП наблюдалось увеличение общего пула глутатиона по сравнению с донорами (соответственно $60,567 \pm 0,891$ и $33,615 \pm 0,51$ нмоль/мг белка, $p < 0,001$). Нарастание общего пула происходило как за счет восстановленной, так и за счет окисленной формы глутатиона, доля которого возросла с 17,2% до 41,6%. У больных с панкреонекрозом увеличение общего пула глутатиона было несколько более выражено, чем в первой группе ($62,509 \pm 0,893$, $p > 0,5$). Нарастание общего пула глутатиона у больных второй группы отмечено только за счет окисленной формы, доля которой возросла с 17,2% до 56,4%, а количество восстановленной формы даже несколько понизилось по сравнению с донорами (соответственно $27,363 \pm 1,012$ и $27,748 \pm 0,490$ нмоль/мг белка, $p < 0,1$). Увеличение собственного пула глутатиона, по-видимому, обусловлено синтезом его *de novo*, а значительное нарастание доли окисленной формы у больных с деструктивным процессом в ПЖ, по нашему мнению, связано с повышенным участием глутатиона в восстановительно-окислительных реакциях и замедлением регенерации окисленного глутатиона в связи с относительной недостаточностью ГР.

Проводимое «традиционными» методами лечение - с применением холинолитиков, антибиотиков, анальгетиков, антиферментных препаратов, инфузионной терапии, с использованием в ряде случаев оперативного вмешательства приводило к улучшению состояния больных обеих групп. Наряду с клиническим улучшением и нормализацией общеклинических лабораторных показателей изменялась интенсивность ПОЛ. Так, у больных 1-й группы уровень первичных продуктов ПОЛ - ДК снизился с $119,075 \pm 1,050$ ммоль/мг общих липидов в острой фазе заболевания до $80,211 \pm 1,008$ ммоль/мг при выписке ($p < 0,001$). Концентрация же МДА не превышала контрольных показателей ($p < 0,1$). Активность ГПО в динамике лечения снижалась в 2 раза, а ГР - от $155,1 \pm 1,511$ до $124,89 \pm 1,161$

нмоль НАДФН²/мин/мг белка ($p < 0,001$). Общий пул глутатиона в этой группе больных уменьшался за счет восстановленного и, в большей степени, за счет окисленного, доля последнего снизилась с 41,6% до 23,9%.

У больных с деструктивным панкреатитом концентрация конечных продуктов ПОЛ нормализовалась, уровень ДК оставался повышенным ($87,939 \pm 1,264$ ммоль/мг липидов, $p < 0,01$). Активность ГР снижалась незначительно по сравнению с острой фазой процесса (соответственно $131,19 \pm 1,512$ и $151,12 \pm 2,046$ ммоль НАДФН²/мин/мг белка, $p < 0,01$). Общий пул глутатиона уменьшился исключительно за счет окисленного, доля которого при выписке снизилась с 56,4% до 35,2%.

Вывод. Генерация продуктов ПОЛ у больных с отечной формой ОП происходит преимущественно за счет образования ДК, а у больных с деструктивным панкреатитом - за счет низкомолекулярных свободнорадикальных фрагментов гидроперекисей липидов (МДА).

Уменьшение концентрации первичных продуктов ПОЛ в сыворотке крови обеспечивается не только за счет утилизации их в качестве субстратов дыхания форменными элементами крови, но и в связи с разрушением их в реакциях окислительно-восстановительного перехода глутатиона. Подобный механизм детоксикации токсичных интермедиатов кислорода доминирует у больных с отеком ПЖ. В группе больных с деструктивным панкреатитом, по-видимому из-за частичной недостаточности синтеза и/или восстановления глутатиона, указанный механизм является вспомогательным.

Литература

1. Арчаков, А. И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А. И. Арчаков, Н. М. Мохосев // Биохимия. - 1989. - Вып. 2, т. 54. - С. 179-186.
2. Бурлакова, Е. Б. Перекисное окисление мембран и природные антиоксиданты / Е. Б. Бурлакова, Н. Г. Храпова // Успехи химии. - 1985. - Т. 54, № 9. - С. 540-558.
3. Владимирив, В. Г. Острый панкреатит (экспериментально-клиническое исследование) / В. Г. Владимирив, В. И. Сергиенко - М., 1986. - 240 с.
4. Волчегорский, И. Н. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гепатопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. - 1989. - № 1. - С. 127-131.
5. Путилина, Ф. Е. Определение активности глутатионредуктазы // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): учеб. пособие / под ред. М. П. Прохоровой. - Л.: изд-во Ленингр. ун-та. - 1982. - С. 181-183.
6. Стальная, И. Д. // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Орехович. - М., 1977. - С. 63-64.
7. Стальная, И. Д. Методы определения конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Орехович. - М., 1977. - 392 с.
8. Таранова, Н. П. Микрометод определения общих липидов в лимфоцитах и другом биологическом материале / Н. П. Таранова, Л. В. Говорова // Вопр. мед. химии. - 1987. - № 2. - С. 132-136.
9. Asakava, T. Tiobarbiture Heid Test for Detecting Lipid Peroxides / T. Asakava, E. Matsushita // Lipid. - 1979. - Vol. 14. - P. 401-406.
10. Paglia, D. E. Studies on the quantitative and qualitative characterisation et erythrocyte glutathione peroxidase / D. E. Paglia, W. N. Valentine // J. Lab. Clin. Med. - 1957. - Vol. 1. - P. 158-169.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ
У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

П.С. ФИЛИПЕНКО, Г.С. ИВЧЕНКО, Г.В. ПОТАПОВ

Целью исследования явилось изучение свободнорадикальных процессов в плазме крови 48 больных острым панкреатитом.

Определяли диеновую конъюгацию ненасыщенных жирных кислот, уровень малонового диальдегида с перерасчетом концентрации продуктов ПОЛ на суммарные липиды, активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и содержание глутатиона и его фракций.

Обнаружено, что у больных с отеком ПЖ процесс пероксидации обрывается на стадии зарождения цепей, а у пациентов с деструктивным панкреатитом процесс ПОЛ заканчивается образованием малонового диальдегида.

Ключевые слова: острый панкреатит, свободнорадикальные процессы

FREE RADICAL PROCESSES IN THE PATIENTS
WITH AN ACUTE PANCREATITIS

FILIPENKO P.S., IVCHENKO G.S., POTAPOV G.V.

The research was purposed to study free radical processes in the blood plasma of 48 patients with acute pancreatitis. The authors defined diene conjugation of nonsaturated fat acids, the level of malonic dialdehyde with recalculation of POL products concentration to total lipids ratio, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity and also concentration of glutathione and its fractions.

It was revealed that peroxidase reactions short-stop at the stage of chains initiation in patients with pancreas edema. In the cases of destructive pancreatitis the above process completed at the stage of malonic aldehyde formation.

Key words: an acute pancreatitis, free radical reactions