

provement. We believe that pulmonary VAEE are more easy to perform and more efficient in terms of results.

According to this procedure, surgical intervention (access to operated area) used to be initiated by two methods, depending on dimensions of hydatid cyst:

1. Under the cysts with dimensions of 4 cm to 8 cm in diameter, surgical intervention used to be started from pneumothorax application. In this point after application of pneumothorax, 10 mm trocar and optical devices were inserted into the pleural cavity. Inspection of pleural cavity used to be done. After precise detection of cyst localization place, minor thoracotomy was performed under its projection in the form of 5 cm long incision.

2. In case of the cysts of more than 8 cm in diameter, as well as difficulties in pneumothorax application due to the cohesion process in pleural cavity, surgical intervention started from minor thoracotomy, which marks had been made beforehand according to the radiographic data. Later on, under the visual control, trocar optical device was inserted into the pleural cavity through III intercostal space along the frontal armpit line or through VII-VIII intercostals.

Further stages of operation were performed through minor thoracotomy either under natural visual control or video-control.

The cyst cavity after its treatment was ablated by two methods: according to Bobrov in 125 cases, according to Delbe in 35 cases, according to Vakhidov in 25 cases, according to clinic methodology in 44 cases, according to Vishnevsky in 11 cases, according to Pulatov in 4 cases. The choice of this or that particular method of removing residual cavity depended on its depth. If it was shallow (3 cm) Bobrov's method of capitonnage was used, at medium depth (3 to 7 cm) - Delbe's method. In deep residual cavities (more than 7 cm), considering inadequately satisfying results of the existing methods of capitonnage (Vishnevsky, Vakhidov, Pulatov), new method of capitonnage, which we had developed, was used.

The method was as follows. The centre of the residual echinococcal cavity was captured by applying stitches. One end of the stitch was axial, and spiral stitch was applied from the other end. Starting with the captured spot in the centre of residual cavity bed, the stitches were put clockwise in a spiral, capturing the walls of residual echinococcal cavity. After the completion of the spiral, and after each round, the suture was tied to the axial end of the thread, not involved in the spiral round. Then, the spiral would be continued to the next round, and the step of each round of the spiral was minimized, not exceeding 2 cm. One of the key aspects of this method of capitonnage is that it is around one axis, which is important for pulmonary VAEE.

On the basis of pulmonary VAEE, we have elaborated the following indications for it:

- Singular hydatid cysts;
- Cysts of up to 15 cm in diameter;
- Cysts with complications (empyema of cyst, burst into the bronchial tree).

In our opinion, there are following contraindications to low-invasive interventions in case of the pulmonary hydatid cyst:

- Multiple hydatid cysts located in various lobes of lung;
- Hydatid cysts of more than 15 cm in diameter;
- Cysts of composite shapes;
- Festered hydatid cysts with evident perifocal inflammation;
- Relapse of disease or thoracotomies performed earlier on the damaged side.

The results of low-invasive interventions in case of pulmonary E were quite satisfactory. In such a way, conversions were made in 8 cases (3.4%): in 5 cases due to the cohesion process in pleural cavity, in one case due to deep location of cyst, and it was applied to 2 patients because of evident perifocal inflammation. During post-operation period complications were observed at 17 patients (6.9%): residual cavity at 9 patients (3.8%), exudative pleurisy at 4 patients (1.8%), pneumonia at 3 patients (1.2%), wound abscess at 1 patient (0.4%). It is necessary to stress, that residual pulmonary cavities developed usually after pulmonary VAEE by capitonnage methods of Vishnevsky or Delbe. The method we developed enabled to avoid them.

Using of proposed method was not preferable in the cases of spread residual cavities and upon signs of festering.

There were no relapses observed in post-operation period after slow-invasive pulmonary echinococectomy with correct intake of

anti-parasite medicines (albendazole 10-12 mg/kg in one month).

Therefore, the use of slow-invasive techniques in surgical treatment of patients with pulmonary E allows avoiding large traumatic access, reduction of blood loss during surgery and duration of operation, decrease of pain syndrome and consumption of medicines during post-operation period, and achievement of good cosmetic effect. Application of endo-surgical technology excludes the possibility of such complications as pleural empyema, suture sinus, and rough deforming scars. Correct performance of surgery and intake of anti-parasite medicines during post-operation period allows prevention of disease relapses.

#### Literature

1. Абдиев Т.А., Вахабов Т.А., Журавлева Н.А. и др. Прогноз изменения ситуации по эхинококкозу среди населения в Узбекистане // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2004. №3. С. 53–54.
2. Емельянов С.И., Хамидов М.А. Эндовидеохирургия гидатидных кист и остаточных полостей при эхинококкозе печени. Эндоскопическая хирургия. 2000. №1. С. 13–15.
3. Каримов Ш.И., Нишанов Х.Т., Еицанов А.Т. и др. Эпидемиологические аспекты эхинококкоза // Медицинский журнал Узбекистана. 2001. №3. С. 59–62.
4. Кротов Н.Ф., Шоумаров З.Ф., Расулов А.Э. Первый опыт видеоторакоскопических эхинококкэктомий легких. Эндоскопическая хирургия. 1999. №1. С. 18–23.
5. Шевченко Ю.Л., Харрис С.С., Мусаев Г.Х. и др. Химиотерапия эхинококкоза // Анналы хирургии. 2005. №3. С. 15–20.
6. Guidelines for treatment for cystic and alveolar echinococcus in humans. WHO bullitine, 1996, Vol. 74(3), P. 231–242.

УДК: 616.127-008.853

#### ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА НА ЛИПОЛИЗ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС

И.В. КОМОВ, В.В. ИВАНОВ, Т.С. ФЕДОРОВА, В.И. ШАРАПОВ, Т.П. ЮЗЕНАС\*

Изучение in vitro влияние ПОЛ на липолиз жировой ткани, измеряемый по накоплению в инкубационной среде глицерола и ЖК, оказалось, что в зависимости от степени активации ПОЛ, накопление в инкубационной среде конечных продуктов липолиза – глицерола и ЖК ведут себя по-разному. Продукция глицерола при слабой активации ПОЛ увеличивается, а при высокой активности ПОЛ – ингибируется. Продукция ЖК равномерно ингибируется с ростом активности ПОЛ. Выяснилось, что такая разница в кинетике продуктов липолиза связана с тем, что с ростом активности ПОЛ увеличивается поглощение глюкозы жировой тканью. Это приводит к усилению ретерификации ЖК обратно в ТАГ. Также обнаружилось, что при максимальной, в нашем эксперименте, активности ПОЛ, когда липолиз в целом, измеряемый по глицеролу и ЖК ингибируется, поглощение глюкозы становится наибольшим. Следовательно, внутриклеточный метаболизм глюкозы в некоторой мере переключается с ретерификации ЖК в ТАГ на другие пути.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, липолиз.

Установлено, что стрессы разного генеза вызывают образование избытка свободных радикалов в организме [3]. Особенно активно этот процесс протекает в важнейших регуляторах метаболизма – биологических мембранах. Одним из видов стресса является голодание [2], при котором важную роль в поддержании жизнедеятельности организма выполняет жировая ткань. В этом случае повышается концентрация адреналина в крови и активируется липолиз в жировой ткани триацилглицеридов (ТАГ) на жирные кислоты (ЖК) и глицерол. В это же время стресс сопровождается активацией в тканях организма процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. В условиях in vitro, активировать ПОЛ можно с помощью ионов металлов с переменной валентностью, в частности, железа [4].

**Цель исследования** – изучение взаимосвязи активации процессов ПОЛ и липолиза ТАГ в жировой ткани крыс.

**Материалы и методы исследования.** В экспериментах использовалось 46 белых лабораторных крыс линии Wistar массой 180-200 г. Животных декапитуировали под легким эфирным наркозом и извлекали эпидидимальную жировую ткань. Кусочки жировой

\* Новосибирский ГМУ, 630091 г. Новосибирск, Красный проспект, 52; СибГМУ, 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2

вой ткани (200 мг) инкубировали в 3 мл фосфатного буфера Кребса-Рингера при температуре 37°C, pH 7,4 в воздушной среде с добавлением 2% лошадиного сывороточного альбумина, при постоянном встряхивании 60 циклов/мин. В отдельных экспериментах в среду инкубации добавляли глюкозу в конечной концентрации 10мМ. Концентрацию обезжиренного по методу Gliemann J. [8] лошадиного сывороточного альбумина в среде инкубации определяли согласно методу Bradford M.M. [5]. Эксперимент останавливали извлечением ткани из буфера. Ткань промывали в 0,9% растворе NaCl, высушивали на фильтровальной бумаге и затем подвергали дальнейшим манипуляциям.

Липолиз триацилглицеролов (ТАГ) в жировой ткани активировали, добавляя в инкубационную среду адреналин в конечной концентрации 10 мкМ. Активность липолиза определяли по накоплению в инкубационной среде глицерола [11] и жирных кислот (ЖК) [10].

Для оценки ретроградной реэтерификации изучали включение в глицерол ТАГ радиоактивной метки из глюкозы, меченной в 6-ом положении изотопом  $C^{14}$ . Глицерол ТАГ определяли по разнице между количеством метки в ТАГ и количеством метки в ЖК [9]. Радиоактивность измеряли на  $\beta$ -счетчике Mark-2.

ПОЛ активировали нарастающими концентрациями ионов  $Fe^{2+}$  (50, 100, 150 и 200мкМ) [4], добавляя в среду инкубации свежеприготовленный раствор  $FeSO_4$ . Активность ПОЛ в ткани оценивали по накоплению тиобарбитурат-зависимых продуктов (ТБЗП), которые рассчитывались по концентрации малонового диальдегида (МДА). Для этого липиды жировой ткани экстрагировали методом Folch J., Sloane-Stanley L.M. [6], в экстракте определяли концентрацию ТБЗП (МДА) по изменению оптической плотности раствора при длине волны 532 нм на спектрофотометре СФ-41 [1]. Концентрацию глюкозы в среде инкубации определяли глюкозооксидазным методом. Для истощения запасов гликогена, перед экспериментом крыс лишали пищи на 1 сутки. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** В первой группе экспериментов (6 крыс) оценивали адреналин-стимулированный липолиз по накоплению глицерола в среде инкубации. Добавление адреналина в концентрации 10 мкМ стимулировало липолиз в течение 3 часов, что было принято как стандартное условие для дальнейших экспериментов (рис.1).

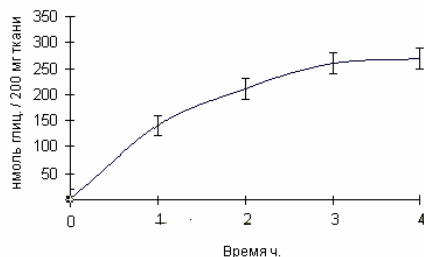


Рис.1. Накопление глицерола в инкубационной среде.

Во второй группе экспериментов (8 крыс) оценивали активность процессов ПОЛ при добавлении в инкубационную среду различных концентраций  $Fe^{2+}$ . Было установлено, что при концентрации в среде инкубации  $Fe^{2+}$  в пределах 50-200 мкМ скорость образования МДА прогрессивно возрастала, что позволило создавать условия для активации ПОЛ разной степени выраженности (рис. 2).

В третьей группе экспериментов (8 крыс) изучали влияние разных концентраций  $Fe^{2+}$  на активность липолиза, измеряемого по концентрации образовавшегося в среде инкубации глицерола и жирных кислот. В результате проведенных экспериментов были получены следующие данные (рис. 3).

При сравнении липолиза, стимулированного только адреналином, с активностью липолиза при индукции ПОЛ (адреналин +  $Fe^{2+}$ ), измеряемого по глицеролу, получили 2 фазный эффект. При слабой активации ПОЛ (50 мкМ  $Fe^{2+}$ ) активность липолиза возрастает (по скорости накопления глицерола), а при дальнейшей активации ПОЛ (100-200 мкМ  $Fe^{2+}$ ) липолиз ингибируется. Измерение ЖК показало, что их концентрация в инкубационной среде равномерно снижается с ростом активности ПОЛ. Таким образом, наблюдается различная динамика изменений концентраций глицеро-

ла и ЖК при адреналин-стимулированном липолизе, зависящая от активности ПОЛ.

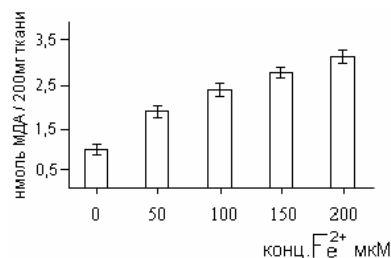


Рис.2. Накопление МДА в жировой ткани в зависимости от концентрации  $Fe^{2+}$  в инкубационной среде.

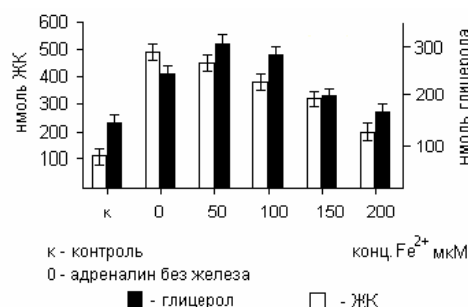


Рис.3. Накопление глицерола и жирных кислот (ЖК) в инкубационной среде в зависимости от концентрации  $Fe^{2+}$  в присутствии глюкозы.

Известно [7], что липолиз ТАГ в жировой ткани сопряжен с ретроградной реэтерификацией освобождающихся ЖК обратно в ТАГ. Учитывая, что активность глицеролкиназы в жировой ткани крайне низкая [13], следовательно, источником глицерола для ресинтеза ТАГ могут служить только триозофосфаты, поступающие из гликолиза. Запасы гликогена в жировой ткани невелики [12], к тому же крысы перед экспериментом голодали для истощения запасов гликогена в течение 1 сут. Следовательно, в условиях нашего эксперимента, источником триозофосфатов может быть только глюкоза из внеклеточного пространства, т.е. из инкубационной среды. Таким образом, можно предположить, что кинетика изменения концентраций ЖК связана не только с активностью ПОЛ, но и зависит от наличия глюкозы в инкубационной среде.

Для подтверждения этой гипотезы провели четвертую группу экспериментов (8 крыс). Условия были те же, что и в 3 группе, но глюкоза в инкубационной среде отсутствовала. Получили одинаковую зависимость адреналин-стимулированного липолиза от активности ПОЛ как по ЖК, так и по глицеролу (рис.4).

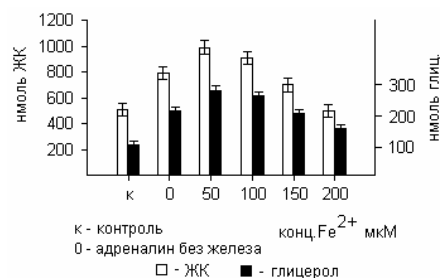


Рис.4. Накопление глицерола и жирных кислот (ЖК) в инкубационной среде в зависимости от концентрации  $Fe^{2+}$  в отсутствии глюкозы.

Таким образом, при низкой активности ПОЛ (50 мкМ  $Fe^{2+}$ ) скорость липолиза выше, чем при стимуляции только адреналином. При дальнейшем росте ПОЛ (100-200 мкМ  $Fe^{2+}$ ) липолиз ингибируется, хотя и остается выше контрольного значения.

Следовательно, наличие глюкозы в инкубационной среде является важной компонентой в ингибировании перекисным окислением адреналин-стимулированного липолиза, измеряемого по ЖК.

Для большей убедительности нашего предположения о влиянии ПОЛ на ретроградную реэтерификацию ЖК, провели пятую серию

экспериментов (9 крыс). Условия были стандартные (глюкоза 10 мМ), но еще присутствовала глюкоза меченная изотопом  $C^{14}$  в 6-ом положении. Сравнили количество включенной метки в глицерол ТАГ в условиях стимуляции липолиза адреналином с количеством метки, включенной при адреналин-стимулированном липолизе, но на фоне активации ПОЛ (50 мМ  $Fe^{2+}$ ). Получили следующие данные (табл.1).

Таблица 1

Влияние адреналина (10 мМ) и ионов  $Fe^{2+}$  (50 мМ) на включение  $C^{14}$ -глюкозы в глицерол ТАГ

| Добавки               | Бк $\times 10^3$ | Изменения (%) | Достоверность |
|-----------------------|------------------|---------------|---------------|
| Контроль              | 4,61 $\pm$ 0,43  | 100           |               |
| Адреналин             | 4,31 $\pm$ 0,42  | 93            |               |
| Адреналин + $Fe^{2+}$ | 9,70 $\pm$ 0,92  | 210           | p<0,01        |

Примечание: Бк  $\times 10^3$  – радиоактивность атомов  $C^{14}$  глюкозы, выраженная в единицах Беккерель.

Таким образом, при наибольшей активации липолиза перекисным окислением (концентрация  $Fe^{2+}$  50 мМ) примерно вдвое больше глицерола из глюкозы  $C^{14}$  включается в ТАГ и, следовательно, больше ЖК реэтерифицируется обратно в ТАГ по сравнению с показателями в отсутствии активации ПОЛ.

В 6 группе экспериментов (7 крыс) было исследовано поглощение глюкозы жировой тканью. Исходя из того, что в условиях нашего эксперимента при максимальной активности ПОЛ ингибируется липолиз – один из основных метаболических путей жировой ткани, была выдвинута гипотеза, что и другие метаболические пути тоже будут ингибироваться.

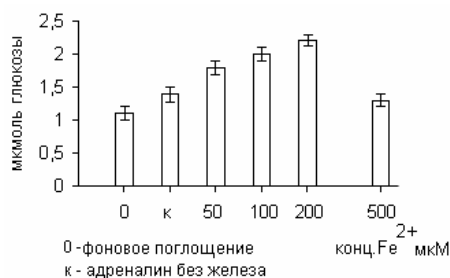


Рис.5. Поглощение глюкозы из инкубационной среды жировой тканью в зависимости от концентрации  $Fe^{2+}$ .

Однако, как представлено на рис.5, оказалось, что при максимальной активации ПОЛ (концентрация  $Fe^{2+}$  200мМ), и соответственно наибольшем ингибировании липолиза, поглощение глюкозы оказывается наивысшим. Добиться ингибирования поглощения глюкозы удалось активацией ПОЛ только при концентрации  $Fe^{2+}$  500 мМ. Поэтому можно сделать вывод, что в нашем эксперименте внутриклеточный метаболизм глюкозы «переключается» в некоторой мере с ресинтеза ЖК в ТАГ на другие метаболические пути.

Таким образом, при исследовании in vitro влияние ПОЛ на липолиз жировой ткани, измеряемый по накоплению в инкубационной среде глицерола и ЖК, оказалось, что в зависимости от степени активации ПОЛ, накопление в инкубационной среде конечных продуктов липолиза – глицерола и ЖК ведут себя по-разному. Продукция глицерола при слабой активации ПОЛ увеличивается, а при высокой активности ПОЛ – ингибируется. Продукция ЖК равномерно ингибируется с ростом активности ПОЛ. Выяснилось, что такая разница в кинетике продуктов липолиза связана с тем, что с ростом активности ПОЛ увеличивается поглощение глюкозы жировой тканью. Это приводит к усилению реэтерификации ЖК обратно в ТАГ. Также обнаружилось, что при максимальной, в нашем эксперименте, активности ПОЛ, когда липолиз в целом, измеряемый по глицеролу и ЖК ингибируется, поглощение глюкозы становится наибольшим. Следовательно, внутриклеточный метаболизм глюкозы в некоторой мере переключается с реэтерификации ЖК в ТАГ на другие пути, что требует дальнейших исследований.

## Литература

1. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах/Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. М.: Наука, 1972. 252 с.
2. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика / Меерсон Ф.З. М.: Наука, 1981. 258 с.
3. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты/Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К.(и др.). М.:Слово, 2006. 556 с.
4. Стояновский Д.А. Изучение механизма ингибирующего действия аскорбино кислоты при перекисном окислении липидов./ Стояновский Д.А.// Свободные радикалы и биостабилизаторы: тез.докл. 1-ого болгаро-советского симпозиума. София, 1987. С.131.
5. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding/M.M.Bradford //Anal.Biochem.1976.Vol.72.P. 248–254.
6. A simply method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J.Folch, L.M.Sloane-Stanley // J.Biol.Chem.1957. Vol. 226, N1. P. 497–509.
7. Effect of hormones on the rate of triacylglycerol / fatty acid substrate cycle in adipocyte and epididymal fat pads/ Brooks B.// FEBS Letters.1982. Vol. 146, №2. P.327–330.
8. Insulin-like activity of dilute human serum assayed by an isolate adipose cell method / J.Gliemann, N.York // Diabetes.1965.Vol.14, N10. P.643–649.
9. Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues / Dole V.P., Meinertz M. // Journal of Biological Chemistry.1960. Vol.235, № 9. P.2595–2599.
10. Rapid and sensitive assay for free fatty acids using rhodamine 6G / Anderson, M.M., McCarty R.E. // Anal.Biochem.1972. Vol.45. P.260–270.
11. Rapid method for estimation of glycerol in fermentation solutions / M.Lambert, A.C.Neish // Can.J.Res., 1950. Vol. 28, №1. sect.B. P.83–89.
12. Studies on rat adipose tissue in vitro/ G.F. Cahill, B. Leboeuf, A.E.Renold. // The Journal of Biological Chemistry. 1959. Vol.10, № 10. P.2541–2543.
13. Turnover of adipose tissue triglycerides measured by the rates of synthesis and release of triglyceride-glycerol / Gorin E., Shafir E. // Biochimica et Biophysica Acta. 1963. Vol.70, P.109–117.

## THE EFFECT OF VARIOUS ION CONCENTRATIONS OF IRON ON LIPOLYSIS AND LIPID PEROXIDATION IN RATS ADIPOSE TISSUE

I.V. KOMOV, V.V. IVANOV, T.S. FEDOROVA, V.I. SHARAPOV, T.P.YUZENAS

Novosibirsk State Medical University

In this article in vitro effect of lipid peroxidation (LP) on the lipolysis of adipose tissue, and measured by the accumulation of glycerol in the incubation medium and free fatty acids (FFA). It turned out that depending on the activation degree of LP accumulation in the medium end products of lipolysis – glycerol and FFA work differently. The products of glycerol with a small activation of LP increases, and are inhibited with the further activation of the LP. The products of the same FFA are inhibited evenly with the activity growth of the LP. It was found out that the difference in the kinetics of lipolysis products was connected with the fact that the increase of the activity of LP is accompanied with the increase of glucose absorption by adipose tissue. This leads to increased re-etherification from FFA back to triacylglycerides (TAG). Also it was found out that at the maximal activity of LP when lipolysis altogether, measured by glycerol and the LCD, is inhibited, the absorption of glucose becomes largest. Therefore, intracellular glucose metabolism to some extent switches from FFA re-etherification to TAG to other metabolic ways.

**Key words:** lipid peroxidation, lipolysis.

УДК 340.626.3:617.53-001.35-07:616.15-074

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА КРОВИ И СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА ГЛАЗА ДЛЯ ПОСТМОРТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МЕХАНИЧЕСКОЙ АСФИКСИИ

П.А. АКИМОВ, Н.А. ТЕРЁХИНА\*

Проведено исследование содержания глюкозы в стекловидном теле глаза от 106 трупов лиц, не страдавших при жизни сахарным диабе-

\* Кафедра биохимии ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера Росздрава» (зав. – проф. Н.А. Терёхина), 614990 г. Пермь, ул. Петропавловская, 26, тел.(342) 217-10-31; электронная почта: rector@psma.ru