

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО ЛЕКАРСТВЕННОЙ КОРРЕКЦИИ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

А.С.Варданян, Э.М.Микаелян

*/Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци,
кафедра хирургических болезней N1, Медицинский центр "Эребуни",
кафедра биохимии/
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: острый панкреатит, перекисное окисление липидов, лекарственная коррекция

Перекисное окисление липидов (ПОЛ), один из видов нормального метаболизма, непрерывно протекает на определенном стационарном уровне во всех тканях организма. В физиологических процессах ПОЛ играет важную роль в регуляции проницаемости биомембран, стабильности их липопротеинового комплекса, скорости клеточного деления, состояния окислительного фосфорилирования, синтеза простагландинов и фагоцитоза. Регуляция ПОЛ, предотвращение избыточного накопления в организме высокотоксичных продуктов при различных патологических состояниях обеспечивается эндогенной антиоксидантной системой (АОС) [1,3].

В экспериментальных и клинических условиях показано, что интегральным моментом, предопределяющим последующее развитие патофизиологических и биохимических нарушений в поджелудочной железе (ПЖ) и в организме в целом при остром панкреатите (ОП), являются функциональные, а затем и структурные изменения мембран экзокринных панкреоцитов [8]. Причем в условиях гипоксии, ацидоза и фокальной недостаточности энергии, доминирующих при данном заболевании, возможна резкая интенсификация в клетках процессов ПОЛ, приводящая к повреждению мембран лизосом с последующей внутрижелезистой активацией ферментов и ее самоперевариванием [9]. Немногочисленные исследования достоверно подтверждают значение процессов ПОЛ в патогенезе ОП, но данных о диагностическом значении содержания в крови продуктов ПОЛ, позволяющих верифицировать форму заболевания, нет [6,10]. Отсутствуют указания на возможность предварительной оценки характера повреждения ПЖ, а также динамики развития патологического процесса на основании анализа состояния ПОЛ. Нет достоверной информации о степени участия процессов липопероксидации и влиянии количества токсических соединений ПОЛ на состояние тяжелого эндотоксикоза, которым сопровождается ОП.

Цель настоящего исследования заключается в изучении процессов ПОЛ и возможности его лекарственной коррекции при ОП в экспериментальных и клинических условиях.

Исследования проведены на 160 беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Животные были подразделены на 3 группы: I – интактные животные (контрольная), n=10; II – животные с ЭОП, не получавшие лечения (n=25); III – животные с ЭОП, получавшие лекарственные препараты: гордокс (n=25), 5-фторурацил (n=25), далаггин (n=25), тиосульфат натрия (n=25), ксилокаин (n=25). Модель ЭОП воспроизводили путем заморозки селезеночного сегмента ПЖ хлорэтилом по П.С. Симаворяну (1974). Препараты вводили ежедневно внутрибрюшинно в стандартных фармакопейных дозировках. Состояние процессов ПОЛ в крови крыс оценивалось в динамике спустя 1, 3 и 24 ч, а также на 3- и 7-е сутки после воспроизведения ЭОП.

Для клинической характеристики процессов ПОЛ при ОП и сравнения полученных результатов с экспериментальными было обследовано 42 больных с данной патологией, находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях Медицинского центра “Эребуни” с 1998г. Средний возраст больных составлял 47±16 лет. Соотношение женщин и мужчин – 67.5 и 32.5%. Диагноз ОП во всех случаях верифицировался на основании стандартных клинико-лабораторных, инструментальных, интраоперационных и патологоморфологических данных. ОП билиарной этиологии составлял подавляющее большинство – 33 больных (54,8%), из них 10 с механической желтухой; алкогольный ОП был выявлен в 13 случаях (31%), послеоперационный ОП, в том числе и после ЭРПХГ – в 3 (7,1%), идиопатический – в 3 случаях (7,1%). В исследуемой группе выделяли следующие клинико-морфологические формы: отечный ОП – 23 больных, геморрагический панкреонекроз – 12, жировой, или паренхимный, – 4, смешанная форма – 2, гнойный ОП – 1. Оперировано 23 больных (59,5%). У 19 из них наблюдалась выраженная картина разлитого перитонита: в 16 случаях – серозно-геморрагический выпот, в 2 – серозно-фибринозный и в 1 – гнойный. Лекарственная терапия ОП проводилась по общепринятой схеме с применением в качестве средств этиопатогенетической терапии тиосульфата натрия и ксилокаина на основании данных, полученных в эксперименте. Последний вводился как внутривенно, так и внутрибрюшинно по дренажу в “сальниковой сумке”. Состояние компонентов ПОЛ, АОС и маркерных ферментов в крови больных ОП оценивалось в динамике: при поступлении больных, на 1-, 3-, 5-, 7-е сутки проводимого лечения и перед выпиской.

Активность процессов ПОЛ и АОС определяли как в плазме крови, так и в эритроцитарных мембранах. В качестве модели биомембран была выбрана эритроцитарная, поскольку изменения в ней наиболее четко отражают характер изменений в биомембранах вообще. Мембраны эритроцитов выделяли по методу Limber [11]. Активность ПОЛ в эритроцитарных мембранах определяли в системах индуцированного аскорбатзависимого (АЗП) и NADPH-зависимого (НЗП) перекисления калориметрическим методом [3]. В плазме крови и эритроцитарных мембранах определяли содержание продуктов ПОЛ, характеризующих различные стадии процесса перекисаации: ацилгидроперекиси (АГП) [4] и диеновые конъюгаты (ДК) – спектрофотометрически [6]; малоновый диальдегид (МДА) – калориметрически [12]; шиффовые основания (ШО) – флуорометрически. Уровень α -токоферола (α -ТФ) как основного компонента АОС организма определяли флуорометрически [5]. Активность гистидазы и урокиназа в плазме крови определяли спектрофотометрически [2]. Содержание белка в пробах рассчитывали по Lowry [13].

Таблица 1

Активность АЗП, НЗП, содержание АГП, ДК, МДА и ШО в эритроцитарных мембранах и плазме крови при отечно-геморрагической и некротической формах ЭОП

Группа		АЗП	НЗП	АГП		ДК		МДА		ШО	
		эритроцитарная мембрана		плазма	эрит. мемб.	плазма	эрит. мемб.	плазма	эрит. мемб.	плазма	эрит. мемб.
		нМ МДА/мг белка		ед/мл	ед/мг	нМ/мл	нМ/мг	нМ/мл	нМ/мг	ед/мл	ед/мг
I Контрольная (n=10)		1,51 ± 0,23	2,47 ± 0,29	2,78 ± 0,25	1,39 ± 0,09	3,35 ± 0,19	11,66 ± 0,51	6,22 ± 0,12	1,58 ± 0,09	0,061 ± 0,005	0,0049 ± 0,0002
II гр. (n=25)	отечно-гемор. фаза (3ч)	6,31 ± 2,5* p<0,02	2,49 ± 1,38	1,45 ± 0,24* p<0,01	1,27 ± 0,42* p>0,5	5,34 ± 1,15* p>0,1	11,99 ± 2,96* p>0,5	13,2 ± 2,19* p>0,5	9,1 ± 1,64* p<0,001	0,046 ± 0,016* p>0,2	0,0084 ± 0,002* p>0,1
	некрот. фаза (24-72ч)	15,2 ± 2,2* p<0,001	5,83 ± 0,42* p<0,001	3,8 ± 0,20* p<0,05	1,05 ± 0,19* p=0,2	4,73 ± 0,42* p<0,02	26,69 ± 3,67* p<0,01	8,27 ± 0,31* p<0,001	4,6 ± 0,3* p<0,001	0,036 ± 0,004* p<0,01	0,0195 ± 0,006* p<0,05

* Различия статистически достоверны по отношению к показателям контрольной группы

Результаты и обсуждение

Как показали полученные результаты, при ЭОП отмечались существенные сдвиги в содержании продуктов ПОЛ, АОС и маркерных ферментов в зависимости от формы-фазы заболевания. Наиболее выраженные изменения концентрации этих продуктов регистрировались в отечно-геморрагической (3 ч) и некротической (24–72 ч) фазах ЭОП.

Как следует из табл. 1, у подопытных животных значительно активируется как ферментативное (НЗП), так и неферментативное звено (АЗП) свободно-радикального окисления липидов, причем последнее в большей степени (в 4–10 раз по сравнению с контрольной группой). Интенсификация ПОЛ сопровождается накоплением в плазме крови и эритроцитарных мембранах агрессивных токсических продуктов. При ЭОП наиболее чувствительными оказались первичные и вторичные продукты ПОЛ–ДК и МДА, содержание которых достоверно возрастало во все сроки эксперимента, особенно в геморрагической и некротической фазах. Содержание АГП превышало контрольные величины лишь при деструктивных формах заболевания (1–3 сутки). Концентрация конечных продуктов ПОЛ–ШО практически не претерпевала изменений на протяжении всего эксперимента.

Таблица 2

Содержание α -ТФ (в плазме крови и эритроцитарных мембранах), гистидазы и уруканиназы (в плазме крови) при отечно-геморрагической и некротической фазах ЭОП

Группа		α -ТФ		Гистидаза	Уруканиназа
		плазма, мг%	эр. мембр., мкг/мг белка	плазма, мкМ/л	плазма, мкМ/л
I Контрольная (n=10)		$0,117 \pm 0,022$	$0,122 \pm 0,019$	$1,1 \pm 0,26$	$0,093 \pm 0,035$
II ЭОП (n=25)	отечно-гемор. фаза (3ч)	$0,042 \pm 0,018^*$	$0,016 \pm 0,002^*$	$4,75 \pm 1,68^*$	$0,129 \pm 0,069^*$
	некрот. фаза (24–72ч)	$0,043 \pm 0,002^*$	$0,035 \pm 0,0097^*$	$5,85 \pm 0,053^*$	$0,083 \pm 0,027^*$

* Различия статистически достоверны по отношению к показателям контрольной группы

Увеличение содержания цитоплазматических маркерных ферментов (гистидаза, уруканиназа) в крови животных в отечно-геморрагической и, особенно, некротической фазах ЭОП указывает на повышенную проницаемость и повреждение клеточных мембран.

Что касается АОС, представленной в нашем исследовании α -ТФ, необходимо отметить, что при ЭОП после адаптационных перестроек, связанных с мобилизацией витамина Е из депо и перераспределением его между тканями, развивается антиоксидантный дефицит как в плазме крови, так и в эритроцитарных мембранах.

В результате проводимого лечения ЭОП вышеуказанными лекарственными препаратами оказалось, что активность процессов липопероксидации наиболее выражено подавляется под влиянием тиосульфата натрия и ксилокаина. Причем последний резко снижает активность обоих звеньев свободнорадикаль-

ного окисления липидов на протяжении всего эксперимента, уменьшает содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в плазме крови (в 2.2 раза, $p < 0.05$). Проведенное экспериментальное исследование подтвердило также выраженные мембранопротективные свойства ксилокаина: применение данного препарата в 2.7 раза снижает уровень гистидазы в сравнении с нелечеными животными ($p < 0.01$), а уроканиназа в плазме крови животных данной группы вообще не определяется. Тиосульфат натрия значительно подавляет активность НЗП (в 1.7 раза, $p > 0.2$), резко уменьшая содержание продуктов ПОЛ в эритроцитарных мембранах. Оба препарата обладают также антиоксидантными свойствами, значительно повышая содержание витамина Е в плазме и эритроцитарных мембранах (в 1.5–2.8 раза, $p < 0.05$).

В обследуемой клинической группе больных ОП также наблюдалась резкая активация процессов ПОЛ с накоплением в крови высокотоксичных продуктов.

Таблица 3

Содержание продуктов ПОЛ в плазме крови и эритроцитарных мембранах больных различными формами ОП

Клин.-морфол. формы	АГП		ДК		МДА	
	плазма ед/мл	эр. мембр. ед/мг	плазма нМ/мл	эр.мембр. нМ/мг	плазма нМ/мл	эр.мембр. нМ/мг
Контроль	2,3 ± 0,2	1,59 ± 0,2	4,55 ± 0,4	1,85 ± 0,2	5,5 ± 0,3	1,5 ± 0,2
Отечный ОП	3,26 ± 0,27*	1,58 ± 0,19*	7,17 ± 1,18*	5 ± 0,8*	6,9 ± 0,56*	2,12 ± 0,25*
Геморрагический панкреонекроз	5,2 ± 0,63*	1,58 ± 0,42*	15,27 ± 2,3*	10,53 ± 2,64*	19,83 ± 5,53*	2,28 ± 0,39*
Жировой панкреонекроз	5,67 ± 0,74*	1,81 ± 0,56*	11,15 ± 1,47*	7,65 ± 0,8	11,45 ± 1,32	2,63 ± 0,26*

* различия статистически достоверны по отношению к контрольным показателям

В сравнении с экспериментальными данными необходимо подчеркнуть, что у больных пик липопероксидации также приходится на деструктивные формы заболевания и значительно превышает соответствующие данные при отежном ОП. Так, содержание ДК в плазме крови и эритроцитарных мембранах до начала лечения у больных отежным ОП превышало нормальные величины в 1.57 ($p > 0.5$) и в 2.7 раза ($p < 0.1$), а у больных с геморрагическим панкреонекрозом — в 3.4 ($p < 0.001$) и 5.7 раза ($p < 0.01$) соответственно. Содержание МДА при отежном ОП в плазме крови превышало контрольные величины в 1.25 раза ($p < 0.05$), в эритроцитарных мембранах — в 1.4 раза ($p > 0.05$), при жировом панкреонекрозе содержание МДА превышало контроль в 2.1 раза ($p < 0.001$) в плазме крови и 1.7 раза в эритроцитарных мембранах. Обнаруженная высокая достоверность между подгруппами больных ОП ($p < 0.01$), а также между группой больных ОП и контрольными величинами свидетельствует о диагностической значимости определения содержания исследуемых продуктов ПОЛ в крови. В клинических условиях наиболее чувствительными оказались именно первичные и вторичные продукты ПОЛ, в то время как уровень ШО изменялся в пределах нормальных величин. Проведенные исследования активности маркерных ферментов в крови больных ОП выявили статистически достоверное увеличение активности гисти-

дазы и уроганиназы, особенно при деструктивных формах заболевания (от 2 до 20 раз). Появление внутриклеточных ферментов в плазме крови дает возможность судить о выраженности нарушений клеточных мембран, а значительное повышение их концентрации — о разрушении клеток. При сопоставлении результатов определения активности процессов ПОЛ, клинической картины и морфологических форм при ОП становится очевидной зависимость тяжести течения заболевания от уровня продуктов ПОЛ в крови больных. Так, у больных с острым геморрагическим панкреонекрозом, отличавшимся наиболее тяжелым течением заболевания, отмечался максимум активности процессов ПОЛ. В связи с поздней обращаемостью и госпитализацией больных ОП (в среднем двое-трое суток от начала заболевания) уже при поступлении выявлялся выраженный антиоксидантный дефицит, свидетельствующий о глубине патологического процесса в ПЖ. Дефицит α -ТФ в плазме крови и эритроцитарных мембранах больных с отечной формой составлял 57 и 71% при поступлении, а при деструктивных формах заболевания — 69 и 77% соответственно.

Важным является и достоверное различие ($p < 0.001$) уровней некоторых показателей ПОЛ (АЗП, НЗП, ДК, МДА) у больных, получавших исключительно консервативное лечение, и больных, которым наряду с консервативным лечением проводилось и оперативное вмешательство, причем показатели липопероксидации и клеточного повреждения в 1.5–3 раза превышали соответствующие данные в группе больных с консервативной терапией ОП. Анализ полученных результатов свидетельствует о различной степени вовлеченности процессов ПОЛ в патофизиологический механизм при ОП различной этиологии. У больных с билиарным ОП, осложненным механической желтухой, а также при послеоперационном ОП регистрировались наиболее высокие показатели, однако достоверных различий с другими группами не выявлено.

Данные, полученные в результате лечения ЭОП вышеперечисленными лекарственными препаратами, получили свое подтверждение и в клинических условиях. В результате комплексной терапии больных различными формами ОП, основными компонентами которой являлись тиосульфат натрия и ксилокаин, наблюдались положительные сдвиги в содержании продуктов ПОЛ и тенденция к нормализации АОС. Показатели ПОЛ у больных с отечным ОП, незначительно повышенные до начала лечения, нормализовались, как правило, к 4–6 суткам лечения. К этому периоду нормализовались также клинические, лабораторные и сонографические показатели. У больных с деструктивными формами заболевания под влиянием проводимого лечения эти процессы нормализовались в среднем на 10–12 сутки.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что при ОП имеет место резкая активация свободнорадикального окисления липидов в биомембранах, что сопровождается накоплением в плазме крови и эритроцитарных мембранах агрессивных токсических продуктов ПОЛ, определяющих тяжесть эндогенной интоксикации на фоне значительного истощения защитной антиоксидантной системы. Высокая концентрация в организме продуктов ПОЛ, а также недостаточность естественной АОС приводят к реализации окислительного стресса, во многом определяющего исход заболевания. Полученные данные свидетельствуют, что неспецифические показатели системы ПОЛ могут служить маркерами, характеризующими форму-фазу (стадию) ОП, тяжесть течения и прогноз заболевания, а также свидетельствовать об эффективности проводимого лекарственного лечения. Применение тиосульфата на-

трия и ксилокаина в качестве средств терапии ОП патогенетически обосновано, поскольку данные препараты обладают антиоксидантными свойствами, значительно подавляют активность процессов липопероксидации, устраняя тем самым дисбаланс в системе ПОЛ-АОС.

Поступила 28.12.99

ԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ԵՎ ՆԻՐԱ ԳԵՂՈՐԱՑՔԱՅԻՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ ՍՈՒՐ ՊԱՆԿՐԵԱՏԻՏՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա.Ս. Վարդանյան, Է.Ս. Միքայելյան

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ սուր պանկրեատիտիսի ժամանակ կարևոր նշանակություն ունի բխմանը քանակական և որակական փոփոխությունները արյան շրջանառության և արյան թանաքի կազմակերպության, որը բերում է պլազմայում և էրիթրոցիտային քաղցրահամային բուխարիում բուխարիում նյութերի կուտակման և պաշտպանական հակաօքսիդանտային համակարգի հյուծման, հաճախ պայմանավորելով հիվանդության ելքը: Այսպիսով՝ սուր պանկրեատիտիսի ժամանակ ԼԳՕ-ի որոշումը հնարավորություն կտա բնութագրել հիվանդության զարգացման փուլը, ծանրության աստիճանը և կանխորոշել հնարավոր ելքը, ինչպես նաև տարվող բուժման արդյունավետությունը: Նատրիում քիոսուլֆատի և քսիլոկայինի օգտագործումը սուր պանկրեատիտիսի ժամանակ կարելի է համարել հիմնավորված, քանի որ նրանք ընկնում են ԼԳՕ-ն և վերացնում հակաօքսիդանտային դիսբալանսը:

THE LIPID PEROXIDATION AND POSSIBILITY OF ITS DRUG CORRECTION IN ACUTE PANCREATITIS

A.S. Vardanyan, E.M. Mikaelyan

The results of investigations in acute experimental and clinical pancreatitis have shown that the activation of lipoperoxidation takes place, because of which the quantity of toxic products highly increases in blood and erythrocyte membranes in acute pancreatitis, weakening the protective antioxidant system. The high concentration of lipoperoxidation products and insufficiency of antioxidant system causes oxidative stress. Such nonspecific data as lipoperoxidation products could be the markers of acute pancreatitis phase, prognostication of the outcome and effectiveness of the treatment. The use of natrium thiosulfate and xylocaine in acute pancreatitis is justified because of their antioxidant properties.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанов М.И., Межлумян Л.М., Миракян Ж.Е. ДАН Арм.ССР, 1988, 37, 3.
2. Бурбин В.А., Лихачева Н.В., Абгарова Е.А. Лаб.дело, 1978, 11, с. 650.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. М., 1972.
4. Гаверилов В.В., Меликорудко М.И. Лаб.дело, 1983, 3, с.11.
5. Голиков П.П., Давыдов П.П., Матвеев С.Б. Вopr.мeд.химии, 1987, 33, 1, с.47.
6. Кирилов Ю.Б., Потапов А.А., Смирнов Ф.А. и др. Хирургия, 1991, 11, с. 53.
7. Лопухин Ю.М., Арчаков А.И., Владимиров Ю.А., Казан Э.М. Холестериноз. М., 1983.
8. Пермяков Н.К. В кн.: Диагностика и лечение осложненных форм острого панкреатита. М., 1985.
9. Савельев В.С., Фидимонов В.И., Бурневич С.З. Анналы хир., 1998, 1, с.34.
10. Смирнов Д.А., Ходосевич Л.С. Хирургия, 1990, 1, с.49.
11. Limber G.B., Davie R.E., Bat A.M. Blood., 1970, 36, 2, p.111.
12. Yoshioka T., Shinado T., Mori M. Amer.J.Obst.Gynecol., 1979, 135, 3, p.372.
13. Lowry O.H., Rosenbrough N.S., Fars A.L. J.Biol.Chem., 1952, 193, 1, p.265.