

Исследование перекисного окисления липидов и содержания оксида азота в крови больных эхинококкозом

А.В.Зангинян, Г.С.Казарян, Л.М. Овсепян

*Институт молекулярной биологии НАН РА
0014, Ереван, ул. Асратяна, 7*

Ключевые слова: эхинококкоз, перекисное окисление липидов, оксид азота

Эхинококкоз – паразитарное заболевание, распространенное во многих странах мира и продолжающее оставаться серьезной медицинской и народно-хозяйственной проблемой. Эхинококкоз вызывается паразитом *Echinococcus granulosus*, который является одним из наиболее опасных паразитов человека и животных [1,7]. Заболевание характеризуется хроническим течением, поражением печени, легких, почек и других органов и структурно-функциональным поражением органов, в которых они обитают. Несмотря на возрастающий интерес к данной проблеме, по сей день остаются мало исследованными особенности молекулярно-биологических механизмов патогенеза и повреждения органов с множественными и осложненными эхинококковыми кистами органов.

Значительную роль в патогенезе метаболических и структурных нарушений при различных патологических состояниях занимают процессы перекисного, свободнорадикального окисления. В иницировании процессов свободнорадикального перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов ведущую роль играют активные формы молекулярного кислорода [8]. В настоящее время несомненно значение оксида азота (NO), как универсального регулятора клеточного и тканевого метаболизма при различных патологических состояниях организма [5].

В доступной нам литературе мы не нашли исследований по определению процессов свободнорадикального окисления в пораженных личинками эхинококков тканях (печень, легкие) промежуточных хозяев.

Исходя из этого, целью настоящей работы явилось исследование процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержания оксида азота в крови больных эхинококкозом печени.

Материал и методы

Исследование проводили на больных эхинококкозом печени, поступивших в стационар. Всем пациентам в период предоперационного обследования, с целью уточнения диагноза, размеров, локализации очаговых образований, выполнялись КТ и УЗИ брюшной полости. Пробы крови брались за 1 день до операции и после операции на 3, 6 и 10-е дни. Контролем были доноры.

Об активности ПОЛ судили по количеству образования гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА). ГП определяли по цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения 480 нм [4]. МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [4]. Количество белка определяли по Лоури [9].

Содержание NO азота определяли с помощью реактива Грисса (1% сульфаниламида; 0,1 % нафтилендиамина; 2,5 % фосфорной кислоты), а абсорбцию раствора измеряли при длине волны 546 нм [2].

Результаты и обсуждение

Как показали результаты исследования, в крови здоровых людей обнаружен определенный стационарный уровень интенсивности свободнорадикальных реакций (табл.).

Таблица

Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови при эхинококкозе печени (n=7)

Показатель	Больные эхинококкозом				
	контроль	до операции	на 3-й день после операции	на 6-й день после операции	на 10-й день после операции
Гидроперекиси, Е нмоль/мг белка	0,46± 0,03	1,3 ± 0,04*	1,26 ± 0, 06	0, 78± 0,04*	0, 6 ± 0,03
МДА, нмоль/мг белка	4,8± 0,53	10,2± 0,45*	12,5± 0,38*	6, 7 ± 0, 42*	6,0 ± 0,37
Общее содержание продуктов ПОЛ	5,26	11,5	13,76	7,48	6,6

*P<0,05

Исследование содержания продуктов ПОЛ у больных эхинококкозом показало их увеличение. Существенно выше были показатели гидроперекисей и малонового диальдегида за день до операции; общий уровень составил 11,5, что почти в 2 раза превышает их содержание в контроле. В первый день после операции наблюдался также повышенный уровень гидроперекисей и малонового диальдегида, который снизился к 10-му дню операции. Гидроперекиси и малоновый диальдегид являются продуктами окислительного распада полиненасыщенных жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой) – важнейшими компонентами фосфолипидов биологических мембран. Повышение их количества является одной из причин, приводящих к повреждению клеток гепатоцитов.

Непосредственным результатом ПОЛ является повышение проницаемости мембраны, изменение ее конформации в мембранных липопротеиновых комплексах, что приводит к изменению активности ферментов. Полученные данные показывают, что развитие эхинококковых цист в печени больных эхинококкозом сопровождается активированием свободно-радикальных процессов. В связи с этим нами было проведено исследование по определению содержания в крови больных NO. Молекула кислорода NO имеет неспаренный электрон, поэтому NO относится к свободнорадикальным соединениям.

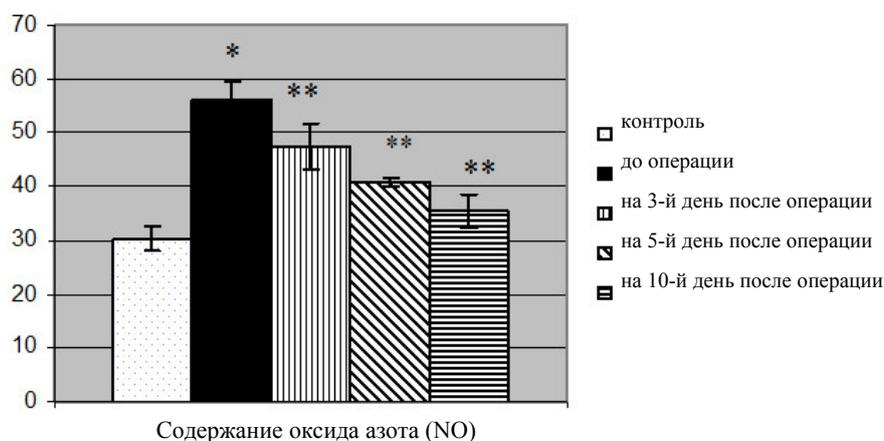


Рисунок. Содержание оксида азота в сыворотке крови больных эхинококкозом (NO в мкмоль/л) (n=7); * P<0,05, **P>0,05

Содержание NO в сыворотке крови больных эхинококкозом за день до операции показало повышение его уровня; в контроле – 30,32 мкмоль/л, а в крови больных эхинококкозом – 55,84 мкмоль/л. На 3-й день содержание NO составило 47,3 мкмоль/л. К 10-му дню содержание его составило 35,5 мкмоль/л.

Увеличение содержания NO играет важную роль в защите клеток печени от повреждающего действия токсических веществ. С другой стороны, избыток NO ухудшает функцию эндотелия, подавляет продукцию эндотелиального NO и угнетает нормальную функцию печени [3]. Клетки печени могут быть подвергнуты действию NO, генерируемого соседними купферовскими клетками, эндотелиальными клетками, а также влиянию эндогенного NO. Было показано, что NO препятствует синтезу белков гепатоцитов [10].

Известно, что взаимодействие NO с активными формами кислорода вызывает генерацию высокотоксичных продуктов, в частности пероксинитрита, что ведет к повреждению и гибели клеток. Оксид азота может присоединяться атомом азота к белкам, имеющим в своем составе серосодержащие аминокислотные остатки. Цитотоксичность пероксинитрита проявляется в окислении прежде всего SH- и NH₂-групп белков, протеолипидов, ДНК [6].

Одним из мощных регуляторных эффектов NO является подавление митохондриального дыхания через ингибирование цитохромоксидазы дыхательной цепи. Кроме того, пероксинитрит может непосредственно взаимодействовать с железом активных центров ключевых ферментов дыхательной цепи, необратимо окисляя их. Подавление митохондриального дыхания приводит к снижению заряда митохондрий, что может инициировать апоптотический процесс.

Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что у больных эхинококкозом печени наблюдается активирование свободнорадикальных реакций, приводящих к увеличению содержания гидроперекисей, малонового диальдегида и оксида азота.

Поступила 11.04.12

Մարդու լյարդի էխինոկոկոզի ժամանակ արյան լիպիդների գերօքսիդների և ազոտի օքսիդի պարունակության ուսումնասիրությունը

Հ.Վ. Զանգինյան, Գ.Ս. Ղազարյան, Լ.Մ. Հովսեփյան

Աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել լյարդի էխինոկոկոզի ժամանակ արյան լիպիդների գերօքսիդային պրոցեսները և ազոտի օքսիդի պարունակությունը: Ուսումնասիրման արդյունքում պարզվեց, որ հիվանդությունը ուղեկցվում է ազատ ռադիկալային պրոցեսների ակտիվացմամբ, որը բերում է հիդրոգերօքսիդների, մալոնային դիալդեհիդի և ազոտի օքսիդի քանակի ավելացման:

Investigation of lipid peroxides and nitrogen oxide content in the blood of patients with echinococcosis

H.V. Zanginyan , G.S. Kazaryan, L.M. Hovsepyan

The purpose of this work was to study the process of lipid peroxidation and nitric oxide content in the blood of patients with echinococcosis of the liver. Our data suggest that in patients with liver echinococcosis there is observed activation of free radical reactions leading to increase in the levels of hydroperoxides, malondialdehyde and nitric oxide.

Литература

1. *Акбаев М.Ш.* Паразитология и инвазионные болезни животных. М., 2002.
2. *Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. и др.* Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях. Бюл. exper. биол. и мед., 2000, 7, с. 6 - 9.
3. *Реутов В.П.* Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала. Вестник РАМН, 2000, 4, с. 35–41.
4. *Современные методы в биохимии*, М., 1977.
5. *Atucha N.M., Nadal F.J., Iyu D. et al.* Role of vascular nitric oxide in experimental liver cirrhosis. *Curr. Vasc. Pharmacol.*, 2005, 3 (1), p. 81-85.
6. *Brown G.S.* Borutatte Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, 33 (11) , p. 1440-1450.
7. *Brunetti E., Mark R.* Cystic Echinococcosis. *Medicine Journal*, March 5, 2004, vol. 5, N 3.
8. *Halliwel B., Gutteridg J.M.* Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, 1999.
9. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol.Chem.*, 1951, 193, 1. p. 265-275.
10. *Montoliu C., Kosenko E., Del Olmo J.A. et al.* Correlation of nitric oxide and atrial natriuretic peptide changes with altered cGMP homeostasis in liver cirrhosis. *Liver Int.*, 2005, 25(4), p. 787-795.