

УДК 616. 36 – 002. 951. 21

## РОЛЬ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭХИНОКОКОЗА ПЕЧЕНИ

<sup>1</sup>Дударев В.А., <sup>2</sup>Фокин Д.В., <sup>2</sup>Дударев А.А.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно – Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, e-mail: dudarev-va@yandex.ru;

<sup>2</sup>МБУЗ «Городская клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона», Красноярск

В настоящее время установлено, что ткани, пораженные воспалением, образуют повышенные количества супероксидного радикала (O<sub>2</sub>), приводящие к активированию свободнорадикальных реакций, который рассматривается как универсальный механизм повреждения клетки. Статья посвящена эхинококкозу печени (ЭП) который вызывает глубокие функциональные изменения в печени, приводящие к местным и общим осложнениям, связанными с недостаточностью её работы что влечет за собой нарушении жизнедеятельности организма в целом. И изучению процессов свободнорадикального окисления липидов и белков, состояния липидного спектра мембран эритроцитов, при эхинококкозе печени. На основании результатов исследования выявлена высокая активность процессов ПОЛ которое отражает механизм повреждения клеток печени, вследствие инициации окислительного стресса, играющего существенную роль в патогенезе эхинококкоза печени.

**Ключевые слова:** Дети, эхинококкоз печени, перекисное окисление липидов, фосфолипиды

## THE ROLE OF FREE RADICAL OXIDATION OF LIPIDS AND PROTEINS IN THE PATHOGENESIS OF HEPATIC ECHINOCOCCOSIS

<sup>1</sup>Dudarev V.A., <sup>2</sup>Fokin D.V., <sup>2</sup>Dudarev A.A.

<sup>1</sup>GBOU VPO KrasGMU them. prof. V.F. Vojno-Yasenetsky Russian Ministry of Health, Krasnoyarsk, e-mail: dudarev-va@yandex.ru;

<sup>2</sup>MBUZ «City Clinical Hospital № 20 named. I.S. Berzon», Krasnoyarsk

It is now established that the tissue affected by inflammation form increased amounts of superoxide radical (O<sub>2</sub>), leading to activation of free-radical reactions, which is regarded as an universal mechanism of cell damage. The article is dedicated to the liver echinococcosis (LE) which causes profound functional changes in the liver, leading to local and general complications associated with the failure of its work that entails a violation of the life of the organism in general. As well as the study of the processes of free radical oxidation of lipids and proteins, the state of lipid membranes of erythrocytes, with liver echinococcosis. High activity processes identified on the basis of results of research that reflects the mechanism of lipid peroxidation of liver cell damage as a result of the initiation of oxidative stress, which plays a significant role in the pathogenesis of liver echinococcosis.

**Keywords:** Children, hydatid disease of the liver, lipid peroxidation, phospholipids

Серьезной проблемой для медицинской науки и практического здравоохранения являются гельминтозы человека, на долю которых приходится более 99% всех паразитозов. Сегодня гельминтозами страдают более 90% населения земного шара. Всемирная Организация Здравоохранения обнародовала доклады, из которых следует, что до 80% всех существующих заболеваний человека либо напрямую вызываются паразитами, либо являются следствием их жизнедеятельности в нашем организме [1, 4].

Эти заболевания характеризуются длительным хроническим течением, тяжелыми органными и системными нарушениями, обширностью поражения, приводящими к инвалидности и нередко – к гибели больного. С момента заражения до времени установления диагноза латентный период продолжается от 5 до 20 лет. Эхинококкоз печени (ЭП) вызывает

глубокие функциональные изменения в печени, приводящие к местным и общим осложнениям, связанными с недостаточностью её работы что влечет за собой нарушение жизнедеятельности организма в целом [3, 4, 5].

Вследствие сдавливания эхинококковыми цистами ткани печени, происходит ишемия ткани печени, приводящая к нарушению обменных процессов в ней. В этой связи, исследование состояния и механизмов нарушения регуляции кислородзависимых процессов предоставляет возможность выяснения общих закономерностей и уточнения патогенеза токсического повреждения печени. Решение этих вопросов тесно связано с фундаментальными общебиологическими проблемами, такими как образование свободнорадикальных форм кислорода и азота, пероксидазная модификация липидов и белков, функционирование биомембран,

компаратментализация биохимических реакций [4, 6, 8].

В настоящее время установлено, что ткани, пораженные воспалением, образуют повышенные количества супероксидного радикала ( $O_2$ ), приводящие к активированию свободнорадикальных реакций, который рассматривается как универсальный механизм повреждения клетки [7], приводящий к нарушению обмена белков и липидов в структуре клеточных мембран, изменению микровязкости липидного бислоя, конформации мембранных белков, что отражается на функционировании ионных каналов, активности ферментов, продукции цитокинов, и сродстве рецепторов с лигандами [2, 5, 9].

### Цель исследования

Целью настоящей работы явилось изучение процессов свободнорадикального окисления липидов и белков, состояния липидного спектра мембран эритроцитов, при эхинококкозе печени и их изменений после эхинококкэктомии.

### Материалы и методы исследования

Исследование проводили на больных эхинококкозом печени людей, 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, 5, 10 дни. Контролем были доноры. В основе метода определения липидной пероксидации лежит реакция взаимодействия малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), протекающая при высокой температуре и кислом значении pH и завершающаяся образованием окрашенного триметилового комплекса, содержащего одну молекулу малонового диальдегида и две-ТБК. Экстракцию ФЛ проводили по методу Фолча в модификации Карагезяна [Карагезян К.Г. 1969].

Фракционирование индивидуальных ФЛ проводили методом одномерной восходящей тонкослойной хроматографии с использованием системы растворителей хлороформ-метанол-аммиак (65:35:5). Пятна ФЛ идентифицировали с помощью соответствующих стандартных свидетелей (Sigma, США). Минерализацию липидного фосфора проводили в среде серной и азотной кислот. Количественное определение липидного фосфора осуществляли спектрофотометрически, при длине волны 830 нм (Зубер В.Л., 1982). При оценке полученных результатов проводилась статистическая обработка материала общепринятыми методами вариационной статистики.

Для характеристики вариационного ряда были использованы статистические показатели: средняя арифметическая, среднее квадратичное отклонение, ошибка средней арифметической. Математическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы «SigmaPlot 11.0» с использованием специальных руководств по медицинской и биологической статистике [Лакин Г.Ф. 1990].

### Результаты исследования и их обсуждение

Эхинококкозы – актуальная проблема медицинской паразитологии. Эхинококкоз печени (ЭП) вызывает глубокие функциональные изменения в печени, приводящие к местным и общим осложнениям, связанными с недостаточностью её работы что влечет за собой нарушена жизнедеятельности организма в целом [Акбаев М.Ш. – 2002, Brunetti E., et al, 2004]. Вследствии сдавливания эхинококковыми цистами ткани печени, происходит ишемия ткани печени, приводящая к нарушению обменных процессов в ней. В этой связи, исследование состояния и механизмов нарушения регуляции кислородозависимых процессов предоставляет возможность выяснения общих закономерностей и уточнения патогенеза токсического повреждения печени.

Решение этих вопросов тесно связано с фундаментальными общебиологическими проблемами, такими как образование свободнорадикальных форм кислорода и азота, пероксидазная модификация липидов и белков, функционирование биомембран, компартментализация биохимических реакций. Паразитарные инвазии вызывают активацию ряда иммунных защитных механизмов, как гуморальных так и клеточных. Характер иммунного ответа, индуцированного наличием эхинококковых кист в печени, во многом определяется их морфологическими и биологическими особенностями, основанными на взаимодействии многих типов иммунокомпетентных клеток.

Как показало наше исследование, эхинококкоз печени (ЭП) вызывает глубокие функциональные изменения связанные с развитием окислительного стресса. В связи с вышеизложенным, особую значимость приобретает обнаруженная нами интенсификация процессов перекисного окисления липидов при эхинококкозе. Пусковым механизмом активации свободнорадикального окисления при эхинококкозе печени являются свободные радикалы которые образуются при эхинококкозе вследствие сдавливания эхинококковыми цистами ткани печени, вызванные гипоксическим воздействием. Снижение активности антиоксидательной системы приводит и к нарушению метаболизма белков (табл. 1). В отмеченном плане большую роль играет обнаруженное нами изменения окисления белков. Наиболее важным следствием окислительной модификации белков является инактивация ферментов.

**Таблица 1**

Содержание продуктов ПОЛ и общая антиоксидантная способность сыворотки крови

Обследованные группы	МДА (моль/мл)	ДК (МКМОЛЬ/л)	ОАС (моль/мл)
Контрольная группа	7,09 ± 0,02	9,24 ± 0,12	1,44 ± 0,05
Исследуемые группа	10,41 ± 0,04**	18,4 ± 0,25**	1,89 ± 0,07*

Примечание. \*\*p < 0,001, \*p < 0,01 по сравнению с показателями у здоровых.

**Таблица 2**

Содержание фосфолипидов (ФЛ) (% от общего количества фосфолипидов) в мембранах эритроцитов больных эхинококкозом печени (n = 15)

Фракции фосфолипидов	Больные эхинококкозом				
	Контроль (доноры)	До операции	3-ий день после операции	6-ой день после операции	10-ый день после операции
ЛФХ	10,0 ± 0,5	16,7 ± 0,8*	15,3 ± 1,0**	13,3 ± 1,1**	12,2 ± 0,4
СФМ	18,8 ± 1,5	25,8 ± 1,8**	24,1 ± 1,7***	24,3 ± 1,1***	22,5 ± 2,1
ФИ	8,6 ± 1,2	16,6 ± 1,5*	15,8 ± 1,8**	14,7 ± 1,3**	10,8 ± 0,7
ФХ	28,3 ± 1,8	18,8 ± 1,6***	20,1 ± 1,7***	20,3 ± 1,8***	22,7 ± 2,0
ФС	14,3 ± 1,4	9,6 ± 1,1**	10,8 ± 1,2	12,2 ± 1,1	13,5 ± 1,3
ФЭ	8,5 ± 0,7	6,0 ± 0,8**	7,7 ± 0,6	7,8 ± 0,8	8,4 ± 0,7
КЛ	11,5 ± 0,5	7,1 ± 0,6*	7,3 ± 0,7*	7,4 ± 0,8*	9,3 ± 0,8

Примечание: \* – p < 0,001; \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,05.

1. значимость отличий по сравнению с контролем;
2. значимость отличий по сравнению с 1
3. значимость отличий по сравнению с 2
4. значимость отличий по сравнению с 3

Изучение процесса перекисного окисления липидов при ЭП позволило обнаружить увеличение содержания гидроперексидов и малонового диальдегида в мембранах эритроцитов. Содержание МДА до операции при аскорбат- и НАДФН-зависимом переокислении составило 10,41 ± 0,04 (P < 0,001) и 7,09 ± 0,02 (P < 0,01) соответственно в мембранах эритроцитов больных эхинококкозом печени (ЭП). Содержание в крови конечного продукта липопероксидации – МДА было повышено до начала лечения в среднем в 1,5 раза (P < 0,001) по сравнению с нормой. Кратность увеличения концентрации промежуточных продуктов ПОЛ – ДК составила 2,0 раза в основной группе (P < 0,001).

В первый день после операции наблюдался также повышенный уровень гидроперексидов и малонового диальдегида, который снизился к 10-ому дню операции. Повышение их количества является одной из причин, приводящих к повреждению клеток гепатоцитов.

Любой патологический процесс сопровождается морфологическими и функциональными изменениями в структуре клеточных мембран. Содержание и состав

мембранных липидов нормальных тканей поддерживается в пределах относительно постоянных величин и заметно нарушается при различных внешних воздействиях. В этом аспекте, заслуживает внимания изучение состава фосфолипидов мембран эритроцитов при ЭП.

Результаты исследований показали уменьшение содержания фосфатидилхолинов (ФХ), при параллельном увеличении количества лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) до операции. Исследование ФС и ФЭ также обнаружило уменьшение их содержания в эритроцитарной мембране.

Заслуживает внимания увеличение содержания ФИ, которые являются предшественниками вторичных мессенджеров, таких как инозиттрифосфат 1,4,5 и дилицерид в процессах трансдукции сигнала. Большую роль в индукции апоптоза в митохондриях играют КЛ, содержание которых заметно уменьшается в мембранах эритроцитов при эхинококкозе, что связано с окислительной модификацией этих липидов. Исследование СФМ позволило обнаружить увеличение их содержания. Результаты исследования выявили что отмеченные изменения в содержании ФЛ пациентов с ЭП име-

ют место до операции и на 3-5 день после операции.

К 10 дню обнаруживалась тенденция к нормализации показателей содержания ФЛ к показателям доноров, но не достигала величины показателей, полученных от доноров (табл. 2).

С отмеченной точки зрения исключительно убедительным представляются результаты наших исследований по определению качественного и количественного содержания фосфолипидов мембран эритроцитов при эхинококкозе печени. Согласно полученным данным, эхинококкоз печени сопровождается уменьшением содержания ФХ, ФС, ФЭ, КЛ и увеличением ЛФХ, ФИ. Найденные изменения качественного и количественного состава индивидуальных фосфолипидов могут приводить к серьезным нарушениям функциональной активности клеток.

Таким образом, полученные нами данные позволили установить, что эхинококкоз печени сопровождается активированием свободнорадикальных реакций, приводящий к нарушению обмена белков и липидов в структуре клеточных мембран, продукции цитокинов, нарушением метаболизма, иммунного ответа, что указывает на важную роль окислительных процессов в патогенезе эхинококкоза.

### Выводы

Эхинококкоз печени больных пациентов сопровождается активированием процессов перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов как в НАДФН, так и в аскорбатзависимой системах пере-

окисления до операции с тенденцией их уменьшения после операции. Соотношения ФЛ в мембранах эритроцитов больных эхинококкозом печени характеризуются повышением относительного содержания лизофосфатидилхолинов, сфингомиелинов, фосфатидилинозитидов и уменьшением фосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилэтанолламинов, кардиолипинов до операции и на 3 день после операции.

### Список литературы

1. Акбаев М.Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных. – М., 2002.
2. Буеверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени / А.О. Буеверов // Рос. журнал гастроэнтерол., гепатологии. – 2002. – № 4. – С. 21–25.
3. Гаврилов Б.В. Анализ методов определения продуктов ПОЛ в сыворотке крови по тесту с ТБК / Б.В. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Л.М. Мажуль // Вопросы медицинской химии. – 1987. – Т. 33, № 1. – С. 118–123.
4. Дударев В.А. Хирургическая тактика лечения кистозных-очаговых образований печени у детей. / В.А. Дударев // Международный журнал экспериментального образования – 2014. – № 8 (3). – С.142–145.
5. Скворцов В.В. Пероксидация липидов и антиоксидантная система в гепатологии / В.В. Скворцов // Гепатология. – 2003. – № 3. – С. 7–13.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.