



7th International Scientific Conference

**Science progress in European countries:
new concepts and modern solutions**

Hosted by the ORT Publishing and

The Center for Scientific Research “Solution”

Conference papers

May 31, 2019

Stuttgart, Germany

**СОСТОЯНИЕ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ И РАКОМ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ГОНЧАРОВА Н.Н.

доктор медицинских наук, доцент,

профессор кафедры хирургии №2

Харьковский национальный медицинский университет

г. Харьков, Украина

КОЛЕСНИК В.П.

ассистент кафедры хирургии №2

Харьковский национальный медицинский университет

г. Харьков, Украина

СОМКИНА Е.А.

студентка 4 курса II Медицинского факультета

Харьковский национальный медицинский университет

г. Харьков, Украина

БЕЛОУС О.В.

студентка 4 курса II Медицинского факультета

Харьковский национальный медицинский университет

г. Харьков, Украина

ДЕНИСЕНКО Д.А.

студент 5 курса II Медицинского факультета

Харьковский национальный медицинский университет

г. Харьков, Украина

Актуальность. Окислительный стресс является характерной особенностью нарушений метаболизма в органах и тканях при критических состояниях человеческого организма. Нарушение оксидантноантиоксидантного равновесия — важный фактор в патогенезе заболеваний, в частности таких, как хронический панкреатит и рак поджелудочной железы [1]. Одним из наиболее ранних патофизиологических механизмов воспалительной реакции является активация свободнорадикальных процессов [4,5]. Нарастание воспалительной реакции приводит к нейтрофильной и макрофагальной инфильтрации клетками крови очага повреждения. С активацией фагоцитов нарастает продукция активных форм кислорода, избыток которых приводит к потреблению и истощению компонентов систем физиологической антиоксидации и формированию оксидативного эндотоксикоза (оксидативный стресс) [5,6].

Современные взгляды на этиологию и патогенез хронического панкреатита (ХП) и рака поджелудочной железы (ПЖ) базируются на многофакторной природе этих заболеваний. Однако основными теориями их развития остаются: химическая, инфекционная, дисметаболическая, нейрогуморальная [1]. Среди факторов, способствующих развитию, клинической манифестации и течению этих заболеваний значительное место отводится иммунологическим расстройствам, нарушениям клеточного метаболизма системы пищеварения, которые могут приводить к формированию неконтролируемой дифференциации и пролиферации, в основе которых лежат хронические воспалительные процессы, сопровождающиеся всегда активацией свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов [2,7]. Многочисленные исследования доказали, что процессы свободнорадикального окисления одновременно проявляются определенной последовательностью метаболических изменений на уровне перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков, нуклеиновых кислот с характерными нарушениями биоэнергетических процессов на уровне аэробного и анаэробного механизмов генерации макроэргических субстратов в виде АТФ [2,6,8]. Доказана тесная взаимосвязь этих процессов с давностью, тяжестью и

распространенностью хронического воспалительного процесса в ПЖ и в условиях развития канцерогенеза. Сочетание хронических воспалительных процессов с развитием рака ПЖ выступает основой для изучения кооперативного взаимодействия оксидантно-антиоксидантных процессов и обоснование критериально значимых показателей дисметаболических нарушений, характерные для воспалительных состояний и развития опухолей.

Материалы и методы исследования. Клиническими, лабораторно-инструментальными и гисто-морфологическими методами были диагностированы ХП и рак ПЖ. Все больные пациенты были распределены на 4 группы: в первую группу вошли больные ХП без желтухи (22 человека); во вторую были включены 16 человек с ХП, осложненным желтухой; в третью группу вошли больные раком ПЖ (24 человека) без желтухи и в четвертую группу были включены пациенты больные раком ПЖ, осложненным желтухой (18 пациентов). Группу сравнения составили пациенты аналогичного возраста и пола (17 человек). Программа исследования предусматривала изучение состояния оксидантной и прооксидантной системы по показателям содержания в крови восстановленного глутатиона (Г-SH), свободных сульфгидрильных групп (SH-групп), диеновых конъюгатов, малонового диальдегида (МДА) и активностью ферментов каталазы [3], супероксиддисмутазы, церулоплазмина. Содержание молекулярного продукта ПОЛ-малонового диальдегида в сыворотке крови определяли флюорометрическим методом по реакции с тиобарбетуровой кислотой [10]. Диеновые конъюгаты исследовали спектрофотометрическим методом. Активность каталазы определяли электрофотометрическим методом по скорости утилизации H_2O_2 с инкубационной среды в цветной реакции с молибдатом аммония [3]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) крови изучалась спектрофотометрическим методом по степени ингибирования восстановленного нитросинего тетразолия [8]. Оксидазная активность церулоплазмина определялась методом Равина [9], сущность которого заключается в том, что бесцветная форма хромогено-парафенилендиамина

окисляется в окрашенную сине-фиолетовую форму ($\lambda_{\text{max}}=530$ нм). Содержание в крови восстановленного глутатиона и сульфгидрильных групп определялось спектрофотометрическим методом с реактивом Элмана [8]. Сущность данного метода заключается в использовании специфического тиолового реагента - 5,5 дитиобиснитробензойной кислоты (Реактив Элмана), которая в реакции тиолдисульфидного обмена легко восстанавливается SH-субстратом, образуя окрашенный в желтый цвет продукт тионитробензоат, $\lambda_{\text{max}} = 412$ нм.

Результаты исследования свободно радикальных процессов, перекисного окисления липидов и состояния антирадикальной защиты у больных ХП и раком ПЖ обнаружили дисметаболические нарушения кооперативного взаимодействия оксидантно-антиоксидантного гомеостаза (табл. 1).

Таблица 1

Состояние про- и антиоксидантов у больных с хроническим панкреатитом и раком поджелудочной железы.

Показатели	Группа наблюдения, Mtm				
	Условно здоровые (n=17)	Хронический панкреатит		Рак поджелудочной железы	
		Без желтухи (n=22)	С желтухой (n=16)	Без желтухи (n=24)	Без желтухи (n=18)
ДК (мкмоль\л)	48,6±5,3	80,4±7,2 *	98,3±9,4 *	131,5±11,6*	7,3±9,4 *
МДА (мкмоль\л)	13,2±1,4	30,5±4,6 *	35,7±3,8 *	43,2±4,3 *	46,8±5,2 *
Каталаза (мкат\гНв)	4,8±0,6	8,4±0,9 *	10,2±0,8 *	3,1±0,20 *	2.4±0,18 *
СОД (мкат\мгНв)	0,47±0,05	0,86±0,07 *	0,99±0,10 *	1,23±0,14 *	1,42±0,25 *
Церуло-плазмин (мкмоль\л)	2,8±0,3	3,9±0,24 *	4,5±0,38 *	5,2±0,46 *	6,7±0,54 *
Глутатион (моль\л)	2,15±0,22	2,95±0,27 *	3,26±0,24 *	1,22±0,15 *	0,83±0,09 *
SH-группы (ммоль\л)	10,6±0,9	12,8±1,42 *	15,7±1,20 *	26,4±1,8 *	29,5±2,3 *

Примечание: * разница вероятна $p<0,05$.

В условиях клинического течения хронического панкреатита содержание в сыворотке крови диеновых конъюгатов повышался на 65,4% и 102,1%; малоновый диальдегид на 131% и 170%; глутатион на 37,2% и 51,6%; сульфгидрильные группы на 20% и 48,1%, соответственно без желтухи и при наличии желтухи. В группе пациентов без желтухи повышение SH-групп при ХП было невероятным, тогда как с желтухой этот показатель возрастал в 1,48 раза. Активность ферментов каталазы, супероксиддисмутазы, церулоплазмينا также повышалась на 75% и 112,5%; СОД на 82,9% и 110,6%; церулоплазмин на 39,28% и 60,7% соответственно при ХП без и с желтухой. Вместе с тем, следует отметить об отсутствии достоверных различий в показателях активности ферментов между подгруппами без и с желтухой при ХП. Однако существенный рост диеновых конъюгатов и малонового диальдегида при желтухе в условиях развития ХП, указывает на повышение степени тяжести болезни и эндогенной интоксикации, сопровождающиеся активацией свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов. Такие изменения в динамике прооксидантного состояния могут быть прогностически значимыми в механизмах формирования осложнений ХП, то есть желтухи. Оценка состояния про- и антиоксидантов у больных с ХП указывает на активацию свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов, которые соединены с повышением системы антирадикальной и антиперекисной защиты. Такие изменения в динамике системно-антисистемного взаимодействия отражают состояние значительного напряжения защитно-приспособительных механизмов, направленных на предупреждение развития молекулярной мембранной патологии при хронических воспалительных процессах ПЖ.

Обсуждение результатов исследования. Динамические изменения показателей в условиях формирования рака ПЖ существенно отличались от аналогичных, которые наблюдались при воспалительных процессах. Показатели перекисного окисления липидов - диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид повышались в сыворотке крови почти в три раза, как

при желтухе, так и без таковой (табл. 1) по сравнению с группой условно-здоровых пациентов. Так, диеновые конъюгаты повышались на 170,5% и 203,8%; малоновый диальдегид на 227,2% и 254,5% соответственно без желтухи и при наличии таковой в условиях развития рака ПЖ.

Восстановленный глутатион (Г-SH) в крови значительно снижался - на 43,3% и 61,4% соответственно в подгруппах больных без и при наличии желтухи. Свободные сульфгидрильные группы в крови повышались на 149,05% и 178,3% по сравнению с группой условно здоровых пациентов, как без желтухи так и при наличии таковой. Исследования показали подавление активности каталазы на 35,5% и 50%, рост активности СОД на 161,7% и 202,1%, а также церулоплазмينا на 85,7% и 139,2% соответственно при отсутствии и наличии желтухи у больных раком ПЖ. Исследования показывают, что в отличие от ХП при раке ПЖ наблюдается значительное снижение показателей активности каталазы и содержания восстановленного глутатиона ($p < 0,05$) на фоне существенного роста свободных сульфгидрильных групп в крови. Такая динамика антиоксидантов каталазы и восстановленного глутатиона свидетельствует о нарушении окислительно-восстановительных процессов у больных раком ПЖ, протекающие на фоне накопления активных форм кислорода-перекисей, гидроперекисей и продуктов ПОЛ-малонового диальдегида и диеновых конъюгатов. Значительный рост свободнорадикальных процессов и ПОЛ формируют в организме онкобольных развитие мембранной патологии, сопровождающейся дистрофическими и деструктивными изменениями в клетках и внутриклеточных структурно-функциональных единицах (эндоплазматическая сеть, митохондрии, лизосомы, пероксисомы и др.). Следствием формирования структурно-метаболических нарушений плазматических мембран является поступление свободных сульфгидрильных групп в кровь и снижение восстановительного потенциала клеток и ее синтетических процессов. Эти результаты могут быть прогностически значимыми в дифференциальной диагностике ХП и рака ПЖ.

Выводы. Анализ полученных данных свидетельствует об активации свободнорадикальных процессов и системы антирадикальной защиты в условиях развития ХП, протекающими на фоне значительного напряжения адаптационных и защитно-приспособительных механизмов, направленных на обеспечение гомеостатической функции организма. Результаты динамики кооперативного взаимодействия оксидантно-антиоксидантных процессов у больных раком ПЖ указывают на активацию свободнорадикальных процессов, ПОЛ и угнетение антиоксидантной системы, формирующих развитие мембранной патологии. Динамическая оценка показателей оксидантно-антиоксидантных процессов у больных ХП и при раке ПЖ имеет важное диагностическое значение в дифференциации этих патологических состояний.

Использованная литература:

1. Моргулис М. В. Особенности окислительноантиоксидантного статуса при различных этиологических вариантах хронического панкреатита //Суч. гастроент. – 2005. – №. 3. – С. 23.
2. Добрецов Г. Е. Физико-химические исследования компонентов крови с помощью специальных флуоресцентных зондов //Вестник Российской академии медицинских наук. – 2009. – №. 10. – С. 15-20.
3. Дубинина Е.Е. Методы определения активности каталазы / Е.Е. Дубинина, Л.Ф. Ефимов, Л.Н. Сафронова \ Лаб. дело. – 1988. – №8. – С. 16 – 19.
4. Воробьева Е. Н., Воробьев Р. И. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения //Сибирский научный медицинский журнал. – 2005. – №. 4. – С. 24-29.
5. Евстратова О. Р., Харитонов А. С., Лущик М. В. Роль процессов свободнорадикального окисления в развитии патологий //Международный студенческий научный вестник. – 2016. – №. 4-2. – С. 146-147.

6. Колесникова Л. и др. Свободнорадикальное окисление: взгляд патолофизиолога //Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16. – №. 4. – С. 16-22.

7. Зайцева О.В. Структурно – функциональное состояние цитоплазматических мембран при субхроническом токсическом воздействии на организм теплокровных животных оксигетилированного ксилита Л-655-2-100/ О.В. Зайцева, В.А. Телегин, В.И. Жуков и др. // Теоретична і експериментальна медицина. – 2007. – №3. – С. 65 – 68.

8. Разыграев А. В. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода и 5, 5'-дитиобис (2-нитробензойной кислоты) //Клинико-лабораторный консилиум. – 2004. – №. 4. – С. 19. Мошков К.А.

9. Определение ферментативной активности и иммунореактивности церулоплазмينا в сыворотке крови человека / К.А. Мошков // Лаб. дело. – 1985. – №7. – С. 390 – 395.

10. Федорова Т.К. Реакция с тиобарбитуровой кислотой для определения малонового диальдегида в крови методом флюориметрии / Т.К. Федорова, Т.С. Коршунова, Э.Т. Ларская // Лаб. дело. – 1983. – №3. – С. 25 – 28.