

Summary.

A.M. Ignatiev, K.A. Yarmula

USAGE OF ULTRASONIC DENSITOMETRY FOR EARLY DIAGNOSTICS OF VIBRATORY PATHOLOGY

Under observation there were 186 workers (males) working under the conditions of low intensive vibration. On the basis of the results obtained the possibility to use the parameters of mineral density of bone tissue as diagnostic criterion of early preclinical changes of the body pathological condition had been established.

УДК 616.366-003.7-089:615.83

Н. А. Мацегора

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО СОСТОЯНИЯ, ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ БОЛЬНЫХ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ В ПРОЦЕССЕ РЕАБИЛИТАЦИИ ПОСЛЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ УДАРНО – ВОЛНОВОЙ ЛИТОТРИПСИИ

Одесский государственный медицинский университет

Актуальность. Одним из направлений в исследовании патогенеза ряда заболеваний и эффективности проведенной терапии является изучение процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ). Интенсивность ПОЛ биосубстратов обусловлена равновесием неферментативных окислительных процессов и антиокислительных систем. В норме это равновесие поддерживается на стационарном уровне за счет активности антиоксидантной защиты (АОЗ) [1,2]. Значительное число исследований убедительно свидетельствует о том, что в механизмах поражения гепатобилиарной системы одной из основных причин является гиперлипопероксидация, приводящая к нарушению регуляции метаболической системы кислотно-основного состояния (КОС), оксидативному стрессу и выбросу биогенных аминов, нарушению микроциркуляции, трофики клеточных оболочек, дезорганизации мембранных липидов, липопротеидов и белков [2,3]. Ведущим фактором холелитиаза являются именно дислипидемические процессы, нарушение формирования желчного сладжа, снижение уровня фосфолипидов, желчных кислот, приводящие к увеличенному содержанию нерастворимого холестерина в желчи и выпадению его в осадок с последующим образованием конкрементов [4,5].

Цель работы: исследование системы ПОЛ, АОЗ, КОС при оценке метаболических сдвигов в процессе реабилитации больных желчнокаменной болезнью (ЖКБ) после экстракорпоральной ударно-волновой литотрипсии (ЭУВЛ).

Материал и методы исследования. Под наблюдением находилось 124 больных ЖКБ в возрасте от 22 до 67 лет. Давность заболевания – 12 – 26 лет. Отбор пациентов осуществлялся согласно показаниям к проведению экстракорпоральной ударно-волновой литотрипсии (ЭУВЛ) [6]. В условиях отделения литотрипсии Черноморской центральной бассейновой клинической больницы на водном транспорте (с 2002 года - Одесский областной медицинский центр) проводилась ультразвуковая терапия. Все больные ЖКБ со второго дня после ЭУВЛ направлялись на реабилитационный курс лечения, включавший воздействие излучением гелий-неонового лазера с ППМ 3,5-5,0 мВт/см², расфокусированным пучком диаметром 10-12 см при экспозиции 40 сек на рефлексогенные зоны последовательно: Th YI-X и эпигастральную область, ежедневно, на курс 10-12 процедур и прием минеральных вод: первые 5 дней по 200,0 3 раза в день за 40-60 мин до еды - гидрокарбонатной натриевой, далее в течение трёх недель - сульфатной магниевой кальциевой (в том же питьевом режиме).

Функциональное состояние эндогенных механизмов регуляции реакций свободнорадикального окисления оценивали в эритроцитах крови и сыворотке. Определение содержания сульфгидрильных групп (SH) и дисульфидных связей (SS) водорастворимых белков и низкомолекулярных соединений проводили с помощью реактива Элмана [6] по количеству образующегося тионитрофенильного аниона (ТНФА), прямо пропорционального количеству свободных сульфгидрильных групп. Содержание окисленных и восстановленных никотинамидных коферментов (НАД, НАДН) определяли в спиртовых экстрактах спектрофотометрически по образованию НАДН в присутствии соответствующих ферментов при длине волны 340 нм [7]. Активность фруктозо-1,6-дифосфатазы исследовали по приросту неорганического фосфата, отщепляемого от фруктозо-1,6-дифосфата, в присутствии находящихся в инкубационной среде ферментов реакции [7]. Активность глутатионредуктазы определяли спектрофотометрически по приросту НАДФН [8], а содержание малонового диальдегида – с помощью реакции с тиобарбитуровой кислотой [8]. Содержание основных фракций липидов определяли тонкослойной хроматографией на пластинках «Silufol» UV-254 «Chemapol» [9]. Исследования проводились до ЭУВЛ, на 4-5 день реабилитации и через 1 месяц после лечения.

Результаты лечения и их обсуждение. У больных ЖКБ наблюдалось достоверное увеличение содержания дисульфидов в эритроцитах крови при некотором снижении тиолов, что приводит к значительному уменьшению отношений тиоловых соединений к дисульфидным. После проведенной ЭУВЛ на 4-5 день реабилитационного курса наблюдалось дальнейшее увеличение содержания дисульфидных связей в водорастворимых белках и низкомолекулярных соединениях эритроцитов крови. По окончании курса лечения у больных ЖКБ выявлено достоверно выраженное снижение содержания дисульфидных связей в белках и метаболитах и повышение, соответственно, отношений тиолы/дисульфиды (табл.1.).

Снижение отношений НАД/НАДН свидетельствует о понижении окислительных и возрастании восстановительных свойств в организме человека и животных, что приводит к активации процессов глюконеогенеза и угнетению липогенеза, биосинтеза аминокислот и белков и функционирования гликолиза, цикла трикарбоновых кислот.

У больных желчнокаменной болезнью ускоренное функционирование гликолиза и цикла трикарбоновых кислот запускается увеличенным содержанием окисленных никотинамидных коферментов.

Воздействие лазера на организм больных приводит к снижению отношений окисленных никотинамидных коферментов к восстановленным, что указывает на снижение под влиянием лазеротерапии явлений метаболического алкалоза и согласуется с данными других авторов [10].

Функционирование и проницаемость клеточных мембран тесно связаны с внутриклеточными окислительно-восстановительными процессами с одной стороны, и состоянием системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защитой – с другой. Состояние системы ПОЛ у больных желчнокаменной болезнью характеризуется накоплением МДА и диеновых конъюгатов в сыворотке крови при достоверном снижении показателей антиоксидантной защиты – каталазы и супероксиддисмутазы ($p < 0,001$). После ЭУВЛ на фоне проводимой терапии (4-5 день лечения) процессы перекисного окисления липидов более выражены при соответствующем ослаблении антиоксидантной защиты, что может быть объяснено, с одной стороны, оперативным фактором - ЭУВЛ, а с другой – прооксидантным эффектом лазеротерапии на этапе первых дней воздействия. По окончании реабилитационного курса соотношение ПОЛ к АОЗ существенно ($p^2 < 0,01$ и $p^2 < 0,001$) снизилось за счет повышения факторов защиты. Однако следует заметить, что уровни каталазы, супероксиддисмутазы не достигли цифр контрольной группы ($p < 0,01$). Вместе с тем, произошло снижение содержания в сыворотке крови малонового альдегида – конечного продукта ПОЛ, что обусловило повышение коэффициентов

каталаза/МДА, СОД/МДА, свидетельствующее о возрастании степени антиоксидантной защиты.

Таблица 1
Динамика показателей метаболической системы КОС, ПОЛ и АОЗ у больных ЖКБ после ЭУВЛ (НИЛИ + минеральная вода) (n=32).

Группы Показатели	Контроль (n=10)	До ЭУВЛ	После ЭУВЛ (на 4-5 день)	После ЭУВЛ (через 1мес.)
НАД (в эритро.) мк Моль/мл	0,19 ± 0,01	1,34 ± 0,04 p < 0,001	1,48 ± 0,08 p < 0,001 p ¹ < 0,001	0,21 ± 0,007 p > 0,05 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
НАДН (в эритро.) мк Моль/мл	2,1 ± 0,1	1,91 ± 0,06 p > 0,1	1,86 ± 0,05 p < 0,05 p ¹ > 0,01	1,98 ± 0,3 p > 0,7 p ¹ > 0,5 p ² > 0,6
НАД/НАДН	0,09	0,70	0,2	0,11
SH (в эритро.) Мк Моль/мл	68,3 ± 2,9	56,1 ± 1,1 p < 0,002	50,2 ± 2,4 p < 0,001 p ¹ < 0,02	70,8 ± 0,7 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
SS (в эритро.) Ммк Моль/мл	4,0 ± 0,3	58,4 ± 2,6 p < 0,001	60,6 ± 3,4 p < 0,001 p ¹ > 0,2	7,2 ± 0,5 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
SH/SS	17,08	0,96	0,83	9,83
Каталаза (в сывор.) Мкат./л	16,8 ± 0,9	12,1 ± 0,4 p < 0,001	10,8 ± 0,4 p < 0,001 p ¹ < 0,001	14,7 ± 0,6 p < 0,01 p ¹ < 0,001 p ² < 0,01
СОД(в сывор.) ед.(гНв.мин.)	3,9 ± 0,1	2,2 ± 0,1 p < 0,001	1,9 ± 0,1 p < 0,001 p ¹ < 0,01	2,8 ± 0,1 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
МДА (в сывор.) мкМоль/л	3,2 ± 0,2	6,1 ± 0,2 p < 0,001	6,4 ± 0,2 p < 0,001 p ¹ > 0,2	4,5 ± 0,8 p > 0,2 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
Каталаза/МДА	5,25	1,98	1,69	3,27
СОД/МДА	1,19	0,36	0,3	0,62
Церулоплазмин (в сывор.) мг%	29,9 ± 1,2	47,2 ± 0,9 p < 0,001	43,7 ± 1,0 p < 0,001 p ¹ < 0,02	39,2 ± 0,8 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,002
Дниевые конъюгаты (в сывор.) мМоль/л	1,32 ± 0,07	2,6 ± 0,1 p < 0,001	2,91 ± 0,06 p < 0,001 p ¹ < 0,001	1,73 ± 0,05 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
Глутатион- редуктаза (эритро.) нМоль/с,мл	24,1 ± 0,1	9,8 ± 0,4 p < 0,001	9,4 ± 0,5 p > 0,5 p ¹ < 0,001	19,9 ± 0,4 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001
Фруктозо- дифосфатаза (в эритро.) нМоль/с,мл	0,64 ± 0,01	0,38 ± 0,01 p < 0,001	0,32 ± 0,010 p < 0,001 p ¹ < 0,001	0,57 ± 0,012 p < 0,001 p ¹ < 0,001 p ² < 0,001

p - достоверность отличий по отношению к контролю;

p¹ - достоверность отличий по отношению к 4 – 5 дню лечения;

p² - достоверность отличий p¹ и p².

Таблица 2

Динамика показателей липидограммы больных ЖКБ в процессе реабилитации после ЭУВЛ (n = 32)

Показатели	До лечения	На 4 – 5 день после ЭУВЛ	После лечения	p	p ¹
Количество липопротеидов (ед.)	48,5 ± 4,02	56,4 ± 3,23	45,2 ± 2,2	< 0,5	< 0,01
Количество триглицеридов (ед.)	2,22 ± 0,09	2,46 ± 0,12	1,93 ± 0,1	< 0,05	< 0,01
Фосфолипиды (г/л)	4,42 ± 0,89	4,56 ± 0,34	8,79 ± 1,32	> 0,5	< 0,001
Холестерин (ммоль/л)	6,62 ± 0,15	6,26 ± 0,14	4,8 ± 0,17	> 0,5	< 0,001

p – отношение показателей «до лечения» к показателям на 4-5-й день;

p¹ – отношение показателей на 4-5 й день к показателям «после лечения».

Снижение активности фруктозодифосфатазы в эритроцитах больных желчнокаменной болезнью на фоне резкого снижения редокс-состояния свидетельствует об увеличении окислительных свойств в тканях, характерное для развития явлений компенсированного метаболического алкалоза, тогда как применение лазера в значительной степени способствует запуску ацидотических изменений для компенсации алкалоза.

Одновременное снижение функционирования глутатионовой защиты тканей и повышение содержания малонового диальдегида, свидетельствующее об ускорении процессов перекисного окисления липидов, указывает на участие перекисных процессов при данной патологии в регуляторных механизмах, например, в индукции переноса ионов через мембраны.

Применение у больных разработанного лечебного комплекса вызывает увеличение редокс-состояния в эритроцитах и повышение активности ключевого фермента процессов глюконеогенеза - фруктозо-дифосфатазы, что указывает на запуск ацидотических реакций, а именно ускорение окисления жирных кислот, направленное на компенсацию метаболического алкалоза. В этом случае окисленные метаболиты образуются при дезаминировании аминокислот.

Повышение уровня сывороточного антиоксиданта церулоплазмина, выполняющего роль «перехватчика» супероксидных радикалов и вызывающего ингибирование ПОЛ [11] обусловлено, очевидно, активацией компенсаторно-приспособительных процессов в условиях оксидативного стресса.

Нарушения процессов кислотно-основного состояния, соотношения факторов ПОЛ и АОЗ в пользу ПОЛ способствуют потере клетками ионов Са, внутриклеточному ацидозу и внеклеточному алкалозу, объясняет формирование кальций-дефицитного состояния с явлениями остеопении или остеопороза у больных ЖКБ.

Увеличение восстановительных свойств в эритроцитах крови больных в результате проведенного лечения приводит к увеличению активности глутатионредуктазы и снижению содержания малонового диальдегида, образующиеся ионы водорода активно используются в процессах глюконеогенеза, приводящих к восстановлению углеводных депо и углеводсодержащих соединений в тканях.

Ускоренное использование жирных кислот в процессах окисления и перекисидации приводит к уменьшению содержания в эритроцитах больных желчнокаменной болезнью фосфолипидов и триглицеридов, а также снижению отношения фосфолипиды/холестерин (табл. 2), что способствует развитию атеросклероза и литогенеза.

Применение у больных НИЛИ и минеральной воды приводит к увеличению содержания фосфолипидов и отношения фосфолипиды/холестерин в эритроцитах, нормализации количества свободных жирных кислот, некоторому снижению эфиров холестерина и повышению содержания триглицеридов.

Выводы

1. У больных желчнокаменной болезнью имеет место нарушение регуляции метаболической системы кислотно-основного состояния, развитие внутриклеточного ацидоза и внеклеточного алкалоза на фоне преобладания активности перекисного окисления липидов над факторами антиоксидантной защиты.
2. Воздействие лазеротерапии на организм больных приводит на 4-5 день лечения к ещё большему увеличению содержания дисульфидных связей в водорастворимых белках и низкомолекулярных соединениях эритроцитов крови. Применение НИЛИ и водолечения в курсовом назначении способствует повышению тиоловых соединений и снижению содержания дисульфидных связей в белках и метаболитах и возрастанию, соответственно, отношений тиолы/дисульфиды, что указывает на нормализацию редокс- и антиоксидантного состояния в организме больных.
3. Воздействие лазера на организм больных приводит к снижению отношений окисленных никотинамидных коферментов к восстановленным, что также указывает на снижение под влиянием лазера явлений метаболического алкалоза.
4. Увеличение восстановительных свойств в эритроцитах крови больных в результате проведенного лечения, при применении НИЛИ и водолечения, приводит к увеличению активности глутатионредуктазы и снижению содержания малонового диальдегида.
5. У больных желчнокаменной болезнью отмечается снижение содержания фосфолипидов и триглицеридов, а также снижение соотношения фосфолипиды/холестерин, что свидетельствует о повышении атерогенных свойств крови. Комплексная терапия с использованием НИЛИ и водолечения улучшает клеточный липидный спектр: способствует повышению уровня фосфолипидов при снижению холестерина.
6. Отмеченные изменения свидетельствуют о двухступенчатом эффекте действия лазерного излучения: прооксидантный эффект первых 4-5 воздействий сменяется к концу курса лечения активацией факторов антиоксидантной защиты, что объясняет формирование цитопротекторного действия лазеротерапии и обосновывает целесообразность включения НИЛИ в лечебный комплекс больных желчнокаменной болезнью.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, метаболическая система кислотно-основного состояния, желчнокаменная болезнь, реабилитация после литотрипсии.

Литература.

1. Логинов А.С., Матюшин Б.Н., Якимчук Г.Н. Эффективность фармакотерапии у больных с хронической патологией печени и состояние ферментов антиоксидантной защиты // Тер. арх. – 1995. - №2. – С.3-6.
2. Брюгина Т.С., Амосова Е.Н., Лыховский О.И. Жирно-кислотный состав липидов в липопротеинах сыворотки крови при хронических заболеваниях печени // Клин. Лаб. Диагностика. – 1999. - № 7. – С.5 – 11.
3. Лелюхіна О.В., Аверьянова Л.П., Майкова Т.В. Особливості перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту у хворих з порушенням прохідності протоків панкреато-біліарної системи непухлинного генезу // Гастроентерологія. Міжвідомчий сб. – 2004. – Вип. 35. – С. 276 - 283.
4. Скворцов В.В. Пероксидация липидов и антиоксидантная система в гепатологии // Гематология. – 2003. - № 3. – С. 7 – 13.
5. Аверьянова Л.П., Феденко В.С., Стружко В.С. Взаємозв'язок факторів дестабілізації колохідного стану жовчи при жовчнокам'яної хворобі // Гастроентерологія. Міжвідомчий сб. – 2003. – Вип. 34. – С. 52 - 57.
6. Сидоров В.В., Мацегора Н.А., Главицкий В.Г. Экстракорпоральная ударно-волновая литотрипсия в лечении желчнокаменной болезни // Вісник морської медицини. – 2001. - № 2. С.386 – 394.

7. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И.Прохоровой. – Л: ЛГУ, 1982. – 272 с.
8. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66 – 68.
9. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. – М., 1976. – С. 221 – 223.
10. Пахомова О.О. Метаболічна система підтримки кіслотно-лужного гомеостаза в організмі під впливом деяких факторів ризику: Автореф. Дис. К.біол.н.: 14.00..07, 1993. – 27с.

Summary.

N. A. Matsegora.

DYNAMICS OF ACIDIC MAIN STATE METABOLIC SYSTEM, LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDATIVE DEFENCE INDEXES IN CHOLELITHIASIS PATIENTS DURING REHABILITATION AFTER EXTRACORPORAL SHOCK - WAVED LITOPRISY

In the work presented they have investigated dynamics of acidic main state metabolic system regulation, lipid peroxidation and antioxidative defence Indexes in 32 cholelithiasis patients during rehabilitation after extracorporal shock - waved litoprissy. They have used laser irradiation of low intensity and balneotherapeutics. As the results obtaine they have marked cytoprotective action of the treatment offered and improvement of lipid content of blood.