

УДК 616-002.73: 616.36

## Состояние перекисного окисления липидов у больных лепрой с хроническим гепатитом

В.З. Наумов, М.С. Апришкина, Н.И. Рассказов

ФГУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры Росздрава»

ФГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава»

Астрахань, Россия

### Estimation of lipoperoxidation condition in leprosy patients with chronic hepatitis

V.Z. Naumov, M.S. Aprishkina, N.I. Rasskazov

Leprosy Research Institute, Astrahan

#### Аннотация

Цель исследования – определение состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) у 50 больных лепрой (LL и BL по классификации Ridley, Jopling) с длительным анамнезом антибактериальной химиотерапии. У 14 из этих больных наблюдался хронический гепатит. Вторичные продукты ПОЛ определялись в изопропанольном экстракте плазмы крови с помощью метода ультрафиолетовой спектроскопии (278 нм). В образцах сыворотки крови, предварительно инкубированных с  $Fe^{2+}$  (1 мкмоль  $FeSO_4 \times 7H_2O$  на пробу), определялась также концентрация продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). В обоих случаях результаты выражались в единицах абсорбции на миллилитр образца (ЕА/мл). Выявлена обратная корреляция между уровнем вторичных продуктов ПОЛ и концентрацией ТБК-реактивных продуктов в образцах, инкубированных с  $Fe^{2+}$  ( $R = ? 0,578$ ). Таким образом, показано, что у больных лепрой повышение интенсивности ПОЛ ведёт к снижению окисляемости липидов крови. Это позволяет применить интегральный показатель, характеризующий интенсивность ПОЛ. Он вычисляется путём деления величины концентрации вторичных продуктов ПОЛ на величину уровня ТБК-реактивных продуктов в образце сыворотки, инкубированной с  $Fe^{2+}$ . Этот показатель назван авторами «коэффициент перекисидации» (КП). Установлено, что среднее значение КП у больных лепрой с хроническим гепатитом (0,733) значительно ( $P < 0,01$ ) выше такового у остальных больных (0,178). Предлагается использовать показатель КП в качестве дополнительного лабораторного критерия для диагностики гепатита у больных лепрой.

#### Ключевые слова

Лепра, гепатит, перекисное окисление липидов.

#### Summary

The aim of the investigation is an estimation of lipoperoxidation (LPO) condition in 50 leprosy patients (LL and BL on Ridley, Jopling classification) with long duration of antibacterial chemotherapy. At 14 of these patients chronic hepatitis were observed. Secondary products of LPO were determined in isopropanol extract of blood plasma by ultraviolet spectroscopy method (278 nm). Spectrophotometric assay of the thiobarbituric acid (TBA)-reactive substances in blood serum samples exposed to  $Fe^{2+}$  (1  $\mu$ mol  $FeSO_4 \times 7H_2O$  in each sample) based upon light absorption at 535 nm was developed too. Results expressed as absorption units in milliliter of sample (AU/ml) in both cases. Inverse correlation between the level of secondary LPO products in plasma and TBA-reactive substances concentration in  $Fe^{2+}$  exposed serum samples is revealed ( $R = ? 0,578$ ). Thus increase of LPO intensity conducts to decrease in oxidability of blood lipids in leprosy patients. So an integrated parameter is proposed for an estimation of LPO intensity. The parameter is calculated by dividing the concentration of secondary LPO products by TBA-reactive products level in serum samples exposed to  $Fe^{2+}$ . This parameter called by authors "peroxidation coefficient" (PK). It is shown, that mean quantity of KP in leprosy patients with chronic hepatitis (0,733) is significantly ( $P < 0,01$ ) higher than in the others (0,178). The use of the given parameter as additional laboratory criterion of diagnostics of a hepatitis in leprosy patients is recommended.

#### Key words

Leprosy, hepatitis, lipid peroxidation.

Больные лепрой на протяжении длительного периода времени подвержены воздействию тяжелой хронической микобактериальной инфекции, единственным эффективным средством борьбы с которой остаётся комбинированная антибактериальная химиотерапия, длящаяся годами. Последствия как самого микобактериоза, так и побочного действия химиопрепаратов проявляются в структурных и функциональных нарушениях физиологических систем и органов, в том числе печени, которая, как известно, играет немаловажную роль в процессах очищения организма от патогенов и ксенобиотиков. Для лепры характерен вторичный иммунодефицит [1], при котором рекомендуется, в частности, в перечне средств иммунореабилитации, терапия антиоксидантами [2], что в каждом конкретном случае требует адекватной оценки оксидантного статуса организма. Выявленное нами ранее снижение уровня окисляемости липидов в составе липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) у больных лепрой с проявлениями хронического гепатита [3] может быть обусловлено активацией свободнорадикальных процессов в организме больного. Известно, что последние связаны с функционированием фагоцитирующих эффекторов воспаления [4], играющих ключевую роль в патогенезе лепры. Подтверждением дискоординации метаболических реакций при хроническом гепатите у больных лепрой является и нарушение соотношения процессов ацетилирования и монооксигенирования с повышением активности монооксигеназ, обеспечивающих ферментативное окисление катаболического характера, в том числе при биотрансформации химиопрепаратов [5]. Гидроксильные производные таких реакций способны оказывать гипоксическое воздействие на ткани, индуцируя неферментативные реакции окисления [6]. Все это указывает на необходимость совершенствования и расширения системы лабораторных критериев, основанных на оценке свободно-радикальных процессов, для определения степени поражения печени в процессе противолепрозной химиотерапии.

Цель данной работы – оценка состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) при хроническом гепатите у больных лепрой, получавших длительные курсы противолепрозной химиотерапии.

### Материал и методы исследования

Обследовано 50 больных лепрой в возрасте от 65 до 80 лет (женщин – 15, мужчин – 35) с диагнозом: лепроматозный тип лепры (LL и VL по классификации Ridley, Jopling [7]) с устойчивым регрессом процесса. Средняя продолжительность болезни и процесса химиотерапии составила  $39,0 \pm 2,3$  лет. Специфические проявления на кожных покровах большинства больных практически отсутствовали или имели остаточный характер. Эритематозные пятна и остаточная инфильтрация отмечались у 3 больных. У большинства обследованных наблюдались характерные для лепры неврологические нарушения с двигательными, чувствительными и трофическими расстройствами. Результаты бактериоскопии были отрицательными. Все больные находились в одинаковых условиях клинического режима, питания, медикаментозной химиотерапии.

На момент исследования комбинированную противолепрозную химиотерапию (дапсон 100мг ежедневно + рифампицин 600мг 1 раз в месяц) получали 10 больных, противорецидивную монотерапию (дапсон 100мг ежедневно) – 28 больных. У 12 больных на момент обследования в специфическом лечении был перерыв.

У 14 больных наблюдались признаки хронического гепатита. Среди клинических и лабораторных проявлений гепатита были: астено-вегетативный синдром, боли в правом подреберье, диспепсический синдром, кожный зуд, повышенная кровоточивость, желтуха, лихорадка, гепатомегалия, спленомегалия, сосудистые звездочки, пальмарная эритема, гинекомастия, повышение уровня трансаминаз. Диагноз хронического гепатита подтвержден инструментальными методами обследования (УЗИ и скенирование печени). Больные с гепатитом были выделены в отдельную группу.

Для оценки интенсивности ПОЛ использован метод измерения содержания в плазме крови (антикоагулянт – ЭДТА 1 мг/мл) вторичных продуктов перекисного окисления липидов в форме триеновых конъюгатов методом ультрафиолетовой спектрофотометрии [8]. Окисляемость липидов сыворотки крови исследовали методом, основанном на измерении их окисления в присутствии ионов двухвалентного железа по уровню малонового диальдегида (МДА), определяемого по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [9].

Экстракция продуктов перекисного окисления липидов из плазмы крови осуществля-

лась по методу И.А. Волчегорского с соавт. (2000) [10].

Спектрофотометрию вторичных продуктов перекисного окисления липидов в изопропанольной фазе экстракта производили при длине волны 278 нм на спектрофотометре Спекорд-40 («Аналитик Йена», Германия). Результаты реакции продуктов ПОЛ с ТБК оценивались на этом же приборе при длине волны 535 нм. Конечный результат в обоих случаях выражали в единицах абсорбции на миллилитр плазмы или сыворотки крови соответственно (ЕА/мл).

### Результаты и обсуждение

В ходе анализа полученных результатов не было выявлено существенных различий по уровню изученных параметров между больными, получавшими моно- или комбинированную химиотерапию, и больными, у которых был перерыв в лечении. В то же время, как следует из полученных результатов (табл. 1), среднее значение концентрации вторичных продуктов ПОЛ у больных лепрой с клинически диагностированным хроническим гепатитом было достоверно выше такового у лиц без гепатита ( $P < 0,05$ ).

Из представленных в этой таблице результатов следует также, что у больных лепрой с проявлениями хронического гепатита наблюдалось значительное снижение уровня окисляемости липидов крови в присутствии ионов двухвалентного железа по сравнению с показателями у больных без проявлений гепатита ( $P < 0,05$ ).

Анализ линейной корреляции между индивидуальными показателями концентрации вторичных продуктов ПОЛ и уровнем МДА, определявшимся в аналитической системе с

ионами двухвалентного железа, показал наличие выраженной статистически достоверной обратной связи между указанными параметрами. Величина коэффициента линейной корреляции (R) составила  $-0,578$  ( $P < 0,01$ ). Таким образом, подтвердилась правильность выдвинутого ранее предположения о зависимости уровня окисляемости липидов периферической крови больного лепрой от интенсивности процессов ПОЛ в организме.

Учитывая выявленную зависимость между уровнем вторичных продуктов ПОЛ в плазме и окисляемостью липидов крови, мы предлагаем использовать соотношение этих показателей с диагностической целью, условно обозначив его как коэффициент пероксидации (КП). Он определяется как отношение концентрации вторичных продуктов ПОЛ, определенных в изопропанольном экстракте плазмы крови спектрофотометрическим методом, к уровню МДА в липидах крови, окисленных «in vitro» в присутствии ионов двухвалентного железа. Так как обе соотносимые величины выражаются в одинаковых единицах (ЕА/мл), сам коэффициент выражается в условных единицах.

Ниже приведены значения КП у больных лепрой с гепатитом и без проявлений гепатита (табл. 2).

Как следует из таблицы 2, нижняя граница доверительного интервала распределения величин КП для больных с проявлениями хронического гепатита при учете величины среднего квадратического отклонения ( $M - S$ ) составляет  $0,433$  усл. ед. Это значительно и статистически достоверно превышает ( $P < 0,01$ ) верхнюю границу доверительного интервала аналогичного показателя у больных лепрой

**Таблица 1**  
**Показатели состояния ПОЛ у больных лепрой**

Группа обследованных	N	Наименование показателя ПОЛ			
		Концентрация вторичных продуктов ПОЛ в плазме крови (ЕА/мл 278 нм)		Концентрация МДА в сыворотке, инкубированной с $Fe^{2+}$ (ЕА/мл 535 нм)	
		M	S	M	S
С хроническим гепатитом	14	0,505	0,090	0,790	0,350
Без гепатита	36	0,245*	0,040	1,690*	0,540

Примечание: ЕА – единицы абсорбции; М – среднее арифметическое; S – среднее квадратическое отклонение; N – число обследованных; \* – различие достоверно при  $P < 0,05$ .

Таблица 2

## Показатели коэффицента пероксидации (КП) липидов у больных лепрой

Группа обследованных	N	Величина КП усл. ед. (M)	S
С хроническим гепатитом	14	0,733	0,300
Без гепатита	36	0,178*	0,084

Примечание: M – среднее арифметическое; S – среднее квадратическое отклонение; N – число обследованных; \* - различие достоверно при P<0,01.

без проявлений гепатита, где она составляет (M + S) 0,262 усл. ед.

Таким образом, величина 0,430 усл. ед. может быть принята в качестве пограничного значения КП, выше которого с определенной степенью вероятности можно диагностировать наличие у больного лепрой хронического гепатита.

Ранее предполагалось (Наумов В.З. с соавт., 2001), что сниженный уровень окисляемости липидов в составе ЛПНП у больных лепрой с поражением печени, по сравнению с больными без функциональных нарушений этого органа, свидетельствует о накоплении в липопротеидах этого класса более резистентных к дополнительному окислению фракций липидов и может быть следствием более выраженных процессов свободнорадикального окисления у больных лепрой с поражением печени «in situ». Действительно, изложенные в настоящей работе результаты свидетельствуют о наличии более высокой концентрации вторичных продуктов ПОЛ в циркулирующей крови больных лепрой с хроническим гепатитом, что достоверно коррелирует со снижением окисляемости липидов. В целом сопоставление этих фактов подтверждает высказанное выше предположение.

Достоверность различий по величине показателя КП у больных лепрой с гепатитом и у па-

циентов с нормальной функцией печени позволяет использовать величину КП в качестве лабораторно-диагностического критерия для установления или уточнения диагноза хронического гепатита при лепре.

Использование этого показателя будет способствовать своевременной коррекции схем применения антибактериальных химиопрепаратов с учетом высокой вероятности нарушения процессов их биотрансформации в печени при наличии гепатита.

### Заключение

Информативность предлагаемого лабораторного критерия диагностики хронического гепатита в виде соотношения концентрации вторичных продуктов ПОЛ и уровня окисляемости липидов крови, т.е. в виде КП, указывает на природу одного из патогенетических механизмов поражения печеночной ткани при лепре. Полученная с его помощью информация может служить основанием для индивидуально обоснованной коррекции окислительного потенциала организма больного лепрой с использованием гепатотропных и антиоксидантных средств. Все это будет способствовать оперативному решению задач эффективного и безопасного лечения больных лепрой.

### Литература

1. Маркова Т.П. Методические подходы к формулировке диагноза вторичного иммунодефицита. Аллергология и иммунология. 2008; 1: 175-6.
2. Нестерова И.В. Вторичные иммунодефициты? объективная реальность: необходимость корректной диагностики и адекватной иммунотерапии. Аллергология и иммунология. 2008; 1: 199- 03.
3. Наумов В.З., Урляпова Н.Г., Цемба В.П., Заднепровская Е.А. Биохимический контроль в процессе химиотерапии при лепре. Астрахань: 2001.
4. Nathan C., Shiloh M.U. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2000; 97 (16): 8841-8.
5. Наумов В.З., Заднепровская Е.А., Ющенко А.А. Роль изучения активности монооксигеназной и ацетилтрансферазной ферментных систем печени у больных лепрой. Вестн. дерматол. и венерол. 2006; 6: 21-3.
6. Зозуля А.А., Елецкий Ю.К. Влияние Ы-токоферола на скорость окислительного гидроксирования этилмор-

фина микросомами печени интактных и ваготомированных крыс. Фармакол. и токсикол. 1981; 44 (1): 104-6.

7. Ridley D.S., Jopling W.H. A classification of leprosy for research purposes. Lepr.Rev. 1962; 33 (2): 119-28.

8. Плацер З., Видлакова М., Кужела Л. Процессы перекисления липидов при повреждении и ожирении печени. Чехословацкое мед. обозрение. 1970; 16(1): 30-41.

9. Андреева Л.И., Кожемякин И.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лаб. дело. 1988; 11: 41-3.

10. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакции организма. Челябинск. 2000.

*Зав. отделом биохимии и иммуногенетики  
ФГУ «Научно-исследовательский институт по  
изучению лепры Росздрава», к.м.н. Наумов  
В.З.*

*Младший научный сотрудник ФГУ «Научно-  
исследовательский институт по изучению  
лепры Росздрава» Апришкина М.С.*

*Зав. кафедрой дерматовенерологии ФГОУ  
ВПО «Астраханская государственная  
медицинская академия Росздрава», профессор  
Рассказов Н.И.*

*414057 г. Астрахань, проезд Н. Островского, 3  
Тел. (8512) 331222*

*e-mail: niil@astmail.astranet.ru*

*Поступила 21.02.09 г*