

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

А.Ю. Щупак, О.А. Лебедько, В.В. Южно

ГБОУ ВПО «Дальневосточный государственный медицинский университет» МЗ РФ, Хабаровск, Российская Федерация

INTEGRAL ESTIMATION OF OXIDATIVE STATUS IN PATIENTS WITH ACUTE TOXIC HEPATITIS AND CHRONIC ALCOHOLIC LIVER DISEASE

A.Y. Shchupak, O.A. Lebedko, V.V. Yukhno

Far-eastern State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Khabarovsk, Russian Federation

АКТУАЛЬНОСТЬ	Развитие острого токсического гепатита как результата острого отравления спиртосодержащими дезинфектантами остается медицинской и социальной проблемой.
МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ	С помощью метода хемилюминесценции (ХМЛ) проведена интегральная оценка оксидативного статуса с использованием сыворотки крови и гомогенизированных гепатобиоптатов у 62 пациентов с диагнозом «острый токсический гепатит тяжелого течения вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов».
РЕЗУЛЬТАТЫ	Исследование показало, что в начале заболевания у больных острым токсическим гепатитом происходила выраженная активация процессов свободнорадикального окисления сыворотки крови и гепатобиоптатов. На это указывало практически двукратное усиление интенсивности генерации свободных радикалов (<i>Ssp</i>). При этом существенно усилилась продукция перекисных (<i>Sind-1</i>) и гидроксильных радикалов (<i>Slum</i>) – в 2,5 и 1,86 раза соответственно; а также почти в 3 раза повысилась концентрация гидроперекисей липидов (<i>h</i>), что свидетельствовало об активации начального этапа процессов перекисидации липидов. Через 30 сут после поступления пациентов в стационар статистически значимого снижения значений показателей оксидативного статуса в паренхиме печени по отношению к таковым при поступлении не происходило. Такая же картина наблюдалась и через 6 мес после начала наблюдения.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Анализируя ХМЛ-граммы сывороток крови больных в сроки до 30 сут от момента поступления, можно косвенно судить о состоянии оксидативного статуса в паренхиме печени пациентов.
Ключевые слова:	острый токсический гепатит, оксидативный статус, спиртосодержащие дезинфектанты.
BACKGROUND	Acute toxic hepatitis associated with acute poisoning with alcohol-containing disinfectants remains a medical and social problem.
MATERIAL AND METHODS	With an aid of chemiluminescence, we performed the integrated assessment of the oxidative status in the blood serum and homogenized liver biopsy tissue of 62 patients with the diagnosis «severe acute toxic hepatitis associated with the use of alcohol-containing disinfectants».
RESULTS	The research showed that at the onset of a disease, patients with acute toxic hepatitis had an expressed activation of free radical oxidation of the blood serum and biopsy tissue. This was indicated by almost double increase in the intensity of free radicals generation (<i>Ssp</i>). This significantly increased production of peroxide (<i>Sind-1</i>) and hydroxyl radicals (<i>Slum</i>) – 2.5 and 1.86 times, respectively; also, it increased concentration of lipid hydroperoxides (<i>h</i>) almost three times, evidencing activation of the initial stage of lipid peroxidation. There was no statistically significant fall of figures indicating the liver parenchymal oxidative status 30 days after the admission. The same situation was observed 6 months after the beginning of the study.
CONCLUSION	Analyzing chemiluminescence scans of blood serums up to 30 days from admission, it is possible to conclude indirectly on a condition of the oxidative status in a liver parenchyma of patients.
Keywords:	acute toxic hepatitis, oxidative status, alcohol-containing disinfectants.

ПГМГ — полигексаметиленгуанидина гидрохлорид
СРО — свободно-радикальное окисление

ХМЛ — хемилюминесценция

ВВЕДЕНИЕ

Развитие острого токсического гепатита вследствие употребления истинных суррогатов алкоголя в последние годы является одной из актуальных проблем во многих регионах Российской Федерации. Так, в 2006–2008 гг. терапевты и токсикологи столкнулись с острой патологией, сопровождающейся выраженной желтухой и приведшей на больничную койку более 12 400 человек. Однотипность клинической картины у большинства заболевших в различных субъектах Российской Федерации свидетельствовала о едином этиологическом факторе токсических гепатитов, что позволило сделать заключение об идентичности спиртосодержащих жидкостей, являющихся причиной патологии [1]. Как показали аналитические исследования, основным токсическим веществом явился дезинфектант полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (ПГМГ) [2].

Число госпитализированных только в Хабаровский центр острых отравлений с ноября 2006 г. по январь 2008 г. составило 150 человек [3].

По данным ряда исследователей, тяжесть упомянутого заболевания и его затяжной характер обусловлены синдромом холестаза, который подтверждался при патоморфологическом исследовании печени [4]. Диагностика затруднялась тем, что у подавляющего большинства пострадавших отравление развивалось на фоне различных стадий алкогольной болезни печени [5].

Известно, что нарушение процессов свободнорадикального окисления (СРО) является одним из ведущих звеньев патогенеза заболеваний печени различной этиологии [6], а его признаки объективно отражают тяжесть поражения тканей и состояние защитных систем организма [7]. В литературе имеются сведения о нарушении свободнорадикального окисления при хронических этаноловых и вирусных гепатитах В, С [8, 9]. В то же время данные об оксидативном статусе при токсических гепатитах вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов практически отсутствуют.

Цель работы: изучить характер изменений оксидативного статуса в сыворотке крови и гомогенизированных гепатобиоптатах при остром токсическом гепатите вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов у пациентов с хронической алкогольной болезнью печени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

После получения одобрения этического комитета на проведение исследований, а также добровольного информированного согласия пациентов на участие в исследовании с помощью метода хемилюминесценции (ХМЛ) проведена интегральная оценка оксидативного статуса в сыворотке крови и гомогенизированных гепатобиоптатах 62 пациентов в возрасте от 24 до 70 лет ($42,31 \pm 1,09$) с диагнозом «острый токсический гепатит тяжелого течения вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов», находившихся на лечении в отделении по лечению острых отравлений КГБУЗ «ГКБ № 10 Хабаровска». Регистрация ХМЛ осуществлялась на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER». Перед началом заболевания пациенты с целью алкогольного опьянения употребляли спиртосодержащие жидкости, в состав которых входил ПГМГ. Преморбидным фоном являлась хроническая

алкогольная болезнь печени. С диагностической целью всем пациентам в 1-е и 30-е сут исследовали сыворотку крови (с дополнительным анализом через 180 сут), а также проводили чрескожную пункционную биопсию печени с применением специального автоматического пистолета фирмы «BARD» (США) и биопсийных игл фирмы «GALLINI» (Италия) диаметром G-16. Полученные столбики биоптатов (20x2 мм) фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. Срезы толщиной 4–5 мкм готовили на ротационном микротоме *Leica RM 2135* и окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону.

Группу сравнения составили 11 пациентов в возрасте от 28 до 70 лет с желчнокаменной болезнью и минимальными изменениями в паренхиме печени (стеатоз А 0-1 + фиброз F 0-1), которым уже была выполнена плановая эндоскопическая холецистэктомия.

Во время пребывания в стационаре пациентам проводилась комплексная терапия, разработанная ФГУ «Научно-практический токсикологический центр» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Росздрава. В комплекс патогенетической терапии в качестве основного гепатопротектора и мембраностабилизатора был включен гепасол по 500 мл в/в капельно 1–2 раза в сут. Обязательная антибактериальная терапия с целью подавления кишечной микрофлоры была представлена ципрофлоксацином по 500 мг 2 раза в сут в течение 7 дней. Внутривенные инфузии назначались для коррекции водно-электролитного баланса, кислотно-основного состояния.

Исследование количественных признаков проводили методом сравнения средних значений двух выборочных совокупностей с определением критерия Стьюдента и уровня значимости (p). Для множественных сравнений определялся критерий Ньюмена-Кейлса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты диагностики представлены в табл. 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что в группе сравнения оцениваемые в сыворотке крови показатели практически не отличались от нормы. В начале заболевания у больных острым токсическим гепатитом происходила выраженная активация процессов свободнорадикального окисления в паренхиме печени. На это указывает практически двукратное усиление (по отношению к группе сравнения) интенсивности генерации свободных радикалов (Ssp). При этом существенно усилилась продукция перекисных (*Sind-1*) и гидроксильных радикалов (*Slum*) — в 2,5 и 1,86 раза соответственно; а также почти в 3 раза повысилась концентрация гидроперекисей липидов (*h*), что свидетельствует об активации начального этапа процессов перекисидации липидов. Кроме того, анализ ХМЛ-грамм гепатобиоптатов показал статистически значимое по отношению к группе сравнения существенное снижение активности антиоксидантной антирадикальной защиты в 1,73 раза.

Через 30 сут после поступления пациентов в стационар показатели оксидативного статуса в паренхиме печени оставались статистически значимо повышенными по отношению к таковым в группе сравнения, при этом их статистически значимого снижения по отношению к их значениям при поступлении не происходило. Следует отметить особенно высокую скорость

накопления перекисных радикалов (*Sind-1*) и концентрации гидроперекисей липидов (*h*) — эти показатели оставались повышенными в 2,39 и 2,48 раза соответственно.

Анализ ХМЛ-грамм сывороток крови в динамике выявил те же закономерности, что и в паренхиме печени: повышение всех показателей оксидативного статуса относительно их значений в группе сравнения при поступлении в стационар и отсутствие статистически значимого их снижения через 30 сут.

Проведенный анализ на основе коэффициента ранговой корреляции Спирмена (*r*) показал наличие прямых сильных связей между всеми исследуемыми показателями оксидативного статуса в гепатобиоптатах и сыворотке крови пациентов как в начале заболевания (для *Ssp* $r=0,82$, $p<0,001$; *Sind-1* $r=0,75$, $p<0,001$; *h* $r=0,43$, $p<0,05$; *Slum* $r=0,71$, $p<0,001$; *Sind-2* $r=0,45$, $p<0,05$; *H* (перекисная резистентность исследуемого субстрата) $r=0,43$, $p<0,05$), так и спустя месяц после поступления в стационар (табл. 2).

При этом разница в интенсивности генерации свободных радикалов (*Ssp*), а также в концентрации перекисных (*Sind-1*) и гидроксильных радикалов (*Slum*) по сравнению с началом заболевания и спустя 30 сут после поступления в стационар была статистически незначимой. Все исследуемые показатели в сыворотке крови у больных и через 6 мес после начала наблюдения оставались статистически значимо повышенными по отношению к их значениям в группе сравнения.

Активность антиоксидантной антирадикальной защиты (*Sind-2*) через 6 мес от начала наблюдения была статистически значимо сниженной по сравнению с первичным обследованием, на этом фоне возростала *H*.

Таким образом, даже спустя 6 мес от начала наблюдения пациентов показатели оксидативного статуса в сыворотке крови оставались повышенными по отношению к таковым в группе сравнения [10].

ВЫВОДЫ

1. У больных острым токсическим гепатитом вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов на фоне хронической алкогольной болезни печени имеет место активация процессов свободнорадикального окисления, на что указывают двукратное усиление интенсивности генерации свободных радикалов при анализе ХМЛ-грамм гепатобиоптатов и угнетение антиоксидантной антирадикальной защиты.

2. Между ХМЛ-показателями оксидативного статуса сыворотки крови и гомогенатов печени больных острым токсическим гепатитом, развившимся вслед-

Таблица 1

Показатели хемилюминесценции (в относительных единицах) в динамике острого токсического гепатита ($M \pm m$)

Показатели	Референтные величины	Группа сравнения (n=11)	При поступлении (n=62)	Через 30 сут (n=62)	Через 6 мес (n=35)
ПАРЕНХИМА ПЕЧЕНИ					
<i>Ssp</i>		0,117±0,008 P1<0,01	0,228±0,01 P4>0,05	0,189±0,017 P2<0,01	—
<i>Sind-1</i>		0,420±0,090 P1<0,01	1,045±0,07 P4>0,05	1,005±0,080 P2<0,01	—
<i>h</i>		0,260±0,090 P1<0,01	0,712±0,030 P4>0,05	0,647±0,050 P2<0,01	—
<i>Slum</i>		0,111±0,016 P1<0,05	0,207±0,020 P4>0,05	0,179±0,018 P2<0,05	—
<i>Sind-2</i>		0,405±0,080 P1<0,05	0,699±0,040 P4>0,05	0,643±0,060 P2<0,05	—
<i>H</i>		0,343±0,080 P1<0,05	0,624±0,040 P4>0,05	0,564±0,050 P2<0,05	—
СЫВОРОТКА КРОВИ					
<i>Ssp</i>	0,110±0,006	0,112±0,008 P1<0,01	0,144±0,006 P4>0,05 P5>0,05	0,130±0,006 P2<0,05 P6>0,05	0,131±0,003 P3<0,05
<i>Sind-1</i>	0,258±0,028	0,257±0,030 P1<0,05	0,436±0,022 P4>0,05 P5>0,05	0,422±0,023 P2<0,05 P6>0,05	0,387±0,028 P3<0,05
<i>h</i>	0,100±0,005	0,101±0,010 P1<0,05	0,172±0,016 P4>0,05 P5<0,05	0,159±0,014 P2<0,05 P6>0,05	0,138±0,005 P3<0,05
<i>Slum</i>	0,101±0,009	0,102±0,008 P1<0,05	0,126±0,012 P4>0,05 P5>0,05	0,119±0,009 P2<0,05 P6>0,05	0,134±0,002 P3<0,05
<i>Sind-2</i>	0,281±0,026	0,286±0,024 P1<0,01	0,440±0,023 P4>0,05 P5<0,05	0,405±0,026 P2<0,05 P6<0,05	0,342±0,009 P3<0,05
<i>H</i>	0,202±0,026	0,200±0,020 P1<0,01	0,367±0,027 P4>0,05 P5<0,05	0,341±0,027 P2<0,05 P6<0,05	0,252±0,018 P3<0,05

Примечания: P1 — статистическая значимость различий показателей в группе сравнения и при поступлении; P2 — статистическая значимость различий показателей в группе сравнения и через 30 сут; P3 — статистическая значимость различий показателей в группе сравнения и через 6 мес; P4 — статистическая значимость различий показателей при поступлении и через 30 сут; P5 — статистическая значимость различий показателей при поступлении и через 6 мес; P6 — статистическая значимость различий показателей через 30 сут и через 6 мес

ствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов, существует прямая корреляционная связь.

3. По данным ХМЛ-грамм сывороток крови больных острым токсическим гепатитом вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов на фоне хронической алкогольной болезни печени при поступлении, а также на 30-е сут с момента госпитализации, можно косвенно судить о состоянии оксидативного статуса в паренхиме печени этих пациентов.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции (R) и уровни их значимости (p) между показателями хемилюминесценции сыворотки крови и гомогенатов печени при остром токсическом гепатите при поступлении

	Гомогенат печени											
	<i>Ssp</i>		<i>Sind-1</i>		<i>h</i>		<i>Slum</i>		<i>Sind-2</i>		<i>H</i>	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
Сыворотка крови												
<i>Ssp</i>	0,82	<0,001	0,67	<0,001	0,43	>0,05	0,71	<0,001	0,65	<0,001	0,59	<0,001
<i>Sind-1</i>	0,78	<0,001	0,75	<0,001	0,0	>0,05	0,68	<0,001	0,61	<0,001	0,59	<0,001
<i>h</i>	0,42	<0,05	0,48	<0,05	0,43	<0,05	0,46	<0,05	0,32	<0,05	0,34	<0,05
<i>Slum</i>	0,72	<0,001	0,68	<0,001	0,43	>0,05	0,71	<0,001	0,65	<0,001	0,60	<0,001
<i>Sind-2</i>	0,38	<0,05	0,46	<0,05	0,40	>0,05	0,48	<0,05	0,45	<0,05	0,39	<0,05
<i>H</i>	0,32	<0,05	0,45	<0,05	0,41	>0,05	0,38	<0,05	0,47	<0,05	0,43	<0,05

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев С.А., Шупак А.Ю., Лебедько О.А., Пучков Ю.Б. Оценка эффективности комплексной терапии токсического гепатита вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2008. – №6. – С. 58–63.
2. Бонитенко Е.Ю., Петров А.Н., Шевчук М.К. Влияние полигексаметиленгуанидина гидрохлорида на токсичность этилового спирта // Тезисы Российской науч.-практ. конф., г. Екатеринбург, 25–26 сентября 2008 г. – Екатеринбург, 2008. – С. 100–102.
3. Алексеев С.А., Шупак А.Ю., Лебедько О.А., Пучков Ю.Б. Влияние урсосана на клиническую симптоматику, морфологические изменения в печени и показатели оксидативного статуса при гепатотоксических поражениях вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов // Клинический персп. гастроэнтерол., гепатол. – 2009. – № 2. – С. 18–23.
4. Ивашкин В.Т., Буверов А.О. Токсический гепатит, вызванный отравлением суррогатами алкоголя // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2007. – № 1. – С. 4–8.
5. Шупак А.Ю., Алексеев С.А., Юхно В.В. Острый токсический гепатит, развившийся вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов: метод. пособие. – Хабаровск, 2008. – 15 с.
6. Лебедько О.А., Тимошин С.С. Активные кислородные метаболиты как универсальные мессенджеры процессов сигнальной трансдукции // Дальневосточный медицинский журнал. – 2004. – № 4. – С. 95–98.
7. Babior B.M. Phagocytes and oxidative stress // Am. J. Med. – 2000. – Vol. 109, N. 1. – P. 33–44.
8. Томилка Г.С., Шепилова О.В., Лебедько О.А. Оценка свободнорадикального статуса сыворотки крови больных вирусным гепатитом А легкой и среднетяжелой формами // Дальневосточный медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 38–39.
9. Артюхов В.Г., Андреева Е.М., Попова Т.Н., Матасова Л.В. Особенности свободнорадикального окисления и каталитические свойства аконитатгидратазы в печени крыс в норме и при токсическом гепатите // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – № 4. – С. 399–402.
10. Алексеев С.А., Шупак А.Ю., Лебедько О.А. Применение урсодезоксихолевой кислоты в комплексной терапии токсических поражений печени вследствие употребления спиртосодержащих дезинфектантов // Российские медицинские вести. – 2010. – Т. 15, № 2. – С. 39–44.

REFERENCES

1. Alekseenko S.A., Shchupak A.Yu., Lebed'ko O.A., Puchkov Yu.B. Otsenka effektivnosti kompleksnoy terapii toksicheskogo gepatita vsledstvie upotrebleniya spirtosoderzhashchikh dezinfektantov [Evaluation of effectiveness of complex therapy of toxic hepatitis due to the use of alcohol-containing disinfectants]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2008; 6: 58–63. (In Russian).
2. Bonitenko E.Yu., Petrov A.N., Shevchuk M.K. Vliyaniye poligeksametilenguanidina gidrokhlorida na toksichnost' etilovogo spirta [The influence of polyhexamethylenguanidine hydrochloride toxicity ethyl alcohol]. *Tezisy Rossiyskoy nauch.-prakt. konf.* [Abstracts of the Russian scientific.-practical. Conf.] Yekaterinburg, September 25–26, 2008. 100–102. (In Russian).
3. Alekseenko S.A., Shchupak A.Yu., Lebed'ko O.A., Puchkov Yu.B. Vliyaniye ursosana na klinicheskuyu simptomatiku, morfologicheskie izmeneniya v pecheni i pokazateli oksidativnogo statusa pri gepatotoksicheskikh porazheniyakh vsledstvie upotrebleniya spirtosoderzhashchikh dezinfektantov [Effect of Ursosan on clinical symptomatology, morphological changes in the liver and indicators of oxidative status in hepatotoxic lesions by the use of alcohol-containing disinfectants]. *Klinicheskiye perspektivy gastroenterologii, gepatologii*. 2009; 2: 18–23. (In Russian).
4. Ivashkin V.T., Bueverov A.O. Toksicheskiy gepatit, vyzvannyi otravleniem surrogatami alkogolya [Toxic hepatitis caused by poisoning with alcohol surrogates]. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2007; 1: 4–8. (In Russian).
5. Shchupak A.Yu., Alekseenko S.A., Yuhno V.V. Ostryi toksicheskiy gepatit, razvivshiy vsledstvie upotrebleniya spirtosoderzhashchikh dezinfektantov: metod. posobie [Acute toxic hepatitis, which developed as a result of the use of alcohol-based disinfectants]. Khabarovsk, 2008. 15 p. (In Russian).
6. Lebed'ko, O.A., Timoshin S.S. Aktivnyye kislorodnyye metabolity kak universal'nye messenzhery protsessov signal'noy transdukcii [Active oxygen metabolites as a universal messenger processes of signal transduction]. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2004; 4: 95–98. (In Russian).
7. Babior B.M. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*. 2000; 109 (1): 33–44.
8. Tomilka G.S., Shchepilova O.V., Lebed'ko O.A. Otsenka svobodnoradikal'nogo statusa syvorotki krovi bol'nykh virusnym gepatitom A legkoy i srednetyazhelyy formami [Evaluation of free radical status in the blood serum of patients with the light and moderate forms of the viral hepatitis A]. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2007; 4: 38–39. (In Russian).
9. Artyukhov V.G., Andreeshcheva E.M., Popova T.N., Matasova L.V. Oso-bennosti svobodnoradikal'nogo okisleniya i kataliticheskiye svoystva akonitatgidratazy v pecheni krysv v norme i pri toksicheskom gepatite [Features of free radical oxidation and catalytic properties aconitate hydratase in the liver of rats in norm and toxic hepatitis]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2004. 4: 399–402. (In Russian).
10. Alekseenko S.A., Shchupak A.Yu., Lebed'ko O.A. Primeneniye ursodezoksiholevoy kisloty v kompleksnoy terapii toksicheskikh porazheniy pecheni vsledstvie upotrebleniya spirtosoderzhashchikh dezinfektantov [The use of ursodeoxycholic acid in complex treatment of toxic liver damage due to the use of alcohol-containing disinfectants]. *Rossiyskiye meditsinskie vesti*. 2010; 15 (2): 39–44. (In Russian).

Поступила 05.11.2015

Контактная информация:

Шупак Александр Юрьевич,

к.м.н., заведующий кафедрой клинической токсикологии

и экстремальной медицины

ГБОУ ВПО Дальневосточного государственного

медицинского университета

e-mail: schupakalex@mail.ru