

DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-12-35-39

## ВЛИЯНИЕ АЛЬБЕНДАЗОЛА НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ЭХИНОКОККОЗОМ ПЕЧЕНИ

Л. А. Михайлова<sup>1</sup>, Н. А. Масленникова<sup>2</sup>, Е. П. Тихонова<sup>1</sup>

Представлены результаты исследования показателей перекисного окисления липидов и составляющих звеньев антиоксидантной системы у 30 пациентов обоего пола старше 18 лет с эхинококкозом печени до и после проведенной противопаразитарной терапии альбендазолом (внутри 400 мг 2 раза в сутки по схеме в течение 28 дней, 3 курса в год). Контроль — 30 относительно здоровых лиц того же возраста. Определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА), церулоплазмину, мочевой кислоты; активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы. По сравнению с пациентами контрольной группы у пациентов с эхинококкозом выявлено повышение уровня МДА в плазме и в мембранах эритроцитов в 2,4 раза и 4 раза, соответственно, снижение уровня церулоплазмину на 40 % ( $p < 0,01$ ). После проведенного курсового лечения уровень промежуточного продукта перекисного окисления липидов — МДА — значимо не изменился. Отмечено увеличение концентрации церулоплазмину на 23 % ( $p < 0,05$ ) и активности каталазы на 92,2 % ( $p < 0,01$ ), но снижение активности супероксиддисмутазы и ферментов глутатионового комплекса в среднем на 32,3 – 59,4 % ( $p < 0,01$ ). Результаты факторного анализа показали, что проводимая этиотропная терапия изменяет степень вовлеченности различных составляющих антиоксидантной системы для поддержания баланса процессов свободно-радикального окисления липидов у больных эхинококкозом печени. Противогельминтная терапия альбендазолом не изменяет количество продукции перекисного окисления липидов, но приводит к активации синтеза антиоксидантного белка церулоплазмину, синтезируемого гепатоцитами, что свидетельствует о нормализации функциональной и синтетической активности печени после гибели паразитов.

**Ключевые слова:** альбендазол; антиоксидантная система; каталаза; малоновый диальдегид; свободно-радикальное окисление; супероксиддисмутазы; церулоплазмин; эхинококкоз печени.

### ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным литературы, течение эхинококкоза печени сопровождается ростом возбудителя в пораженном органе, а также развитием различных структурных и функциональных нарушений клеточных мембран гепатоцитов. Это обусловлено повреждением гепатоцитов в результате механического сдавления эхинококковыми кистами, а также влиянием продуктов жизнедеятельности паразита как на клетки печени, так и на мембраны других клеток. Структурно-функциональные нарушения клеточных мембран могут проявлять себя изменением их проницаемости для ионов и других молекул [4, 5]. Центральным звеном патохимических нарушений при развитии эхинококковой кисты служит некомпенсированное нарастание процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) с последующими нарушениями липидного состава биомембран, изменением активности ключевых фермен-

тов, путей метаболизма и угнетением ферментных систем, ответственных за процессы нормального функционирования клеток [3, 5]. Ткани, пораженные воспалением, образуют повышенное количество супероксидного радикала и оксида азота, приводящих к активированию свободно-радикальных реакций. Этот процесс рассматривается как универсальный механизм повреждения клетки, приводящий к нарушению обмена белков и липидов в структуре клеточных мембран [1, 11]. Согласно данным ряда исследователей, у больных эхинококкозом печени активируются процессы свободно-радикального окисления липидов [5, 10]. Вместе с тем использование противопаразитарной терапии направлено на прекращение жизнедеятельности возбудителя, ликвидацию кист, а, следовательно, должно способствовать восстановлению оптимального метаболизма пораженного органа.

В связи с этим представляет интерес исследование процессов свободно-радикального окисления липидов (про-/антиоксидантный статус) у больных эхинококкозом печени на фоне проведенной этиотропной терапии. Наиболее распространенным средством для консервативной терапии цистного эхинококкоза в настоя-

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, Россия, Красноярск, ул. П. Железняка, 1.

<sup>2</sup> КГБУЗ «Краевая клиническая больница», 660022, г. Красноярск, ул. П. Железняка, 3.

щее время является альбендазол как наиболее эффективный и менее токсичный препарат [3, 10].

Целью настоящей работы явилось исследование уровня продуктов ПОЛ и состояния антиоксидантной системы у больных эхинококкозом печени под влиянием антигельминтной терапии с использованием альбендазола.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено обследование 30 пациентов обоего пола, средний возраст ( $39,2 \pm 0,08$ ) лет с первично выявленным эхинококкозом печени на базе КГБУЗ “Красная клиническая больница” г. Красноярск. Пациенты обследованы до и после проведенного курса противопаразитарной терапии альбендазолом. При составлении программы лечения больных эхинококкозом учитывали период заболевания, размеры кист и их расположение, наличие осложнений. В качестве антигельминтной терапии использовали альбендазол фирмы Ирса (Индия, 400 мг) в соответствии с рекомендациями ВОЗ (МКБ-10; В67 — эхинококкоз). Альбендазол назначали больным в дозе 400 мг 2 раза в сутки по схеме в течение 28 дней, 3 курса в год. В конце лечения проводили повторное обследование. В качестве контроля обследована группа относительно здоровых лиц того же возраста ( $n = 30$ ). Обследование проводили в соответствии с юридическими и этическими принципами медико-биологических исследований у человека (заключение локального этического комитета ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого; протокол № 30/2011 от 25.02.2011 г.), от всех обследованных лиц было получено информированное согласие. Диагностику эхинококкоза осуществляли на основании наличия ведущих клинических синдромов заболевания: общеинфекционного, астенического, органических поражений (печени), а также сведений эпидемиологического анамнеза. Основным методом диагностики являлся иммуноферментный анализ (определение антител к антигенам эхинококка).

Определение содержания малонового диальдегида (МДА) осуществляли с помощью тиобарбитуровой кислоты; церулоплазмينا в плазме крови — с помощью метода Ревина [7]; концентрацию мочевой кислоты определяли с помощью набора ООО “Ольвексдиагностикум”. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах крови определяли спектрофотометрически [8]. Активность глутатионпероксидазы осуществляли по изменению содержания восстановленного глутатиона в пробах до и после инкубации с модельным субстратом — *трет*-бутилгидропероксидом в ходе цветной реакции GSH с 5,5'-дитио-(бис)-нитробензойной кислотой [6]. Активность каталазы определяли с использованием молибдата аммония [9].

Статистическую обработку материалов проводили на ПК Pentium-MMX в среде WINDOWS XL с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office 2008

(MS Excel) и программы Statistica 7.0 (StatSoftInc, США). Проверка гипотезы о нормальности распределения количественных признаков проводилась с помощью критерия Шапиро — Уилка. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала  $Me [Q_1 - Q_3]$ . Сравнение достоверности отличий в независимых группах было проведено с помощью непараметрического *U*-критерия Манна — Уитни (для 2 выборок) и Крускала — Уоллиса (для 3 групп сравнения). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез о существовании различий показателей между группами (*p*) принимался равным 0,05 и меньше. Проведен факторный анализ, рассчитывалась матрица факторных нагрузок после вращения методом VARIMAX (максимизации “дисперсии” квадратов факторных нагрузок для переменных). При  $ri > 0,95$  предложенная модель хорошо описывает процесс и свидетельствует о наличии функциональной связи между анализируемыми показателями, при  $0,8 < ri < 0,95$  модель удовлетворительно описывает процесс [2].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным литературы и полученным нами результатам можно констатировать, что при эхинококкозе печени нарушаются процессы ПОЛ с накоплением высокотоксичных для клеток метаболитов, что связано с гипоксией и иммунным воспалением, развивающимся вследствие токсического действия компонентов паразитарной кисты, механической компрессии ткани органа, нарушением микроциркуляции. В ходе проведенных исследований было установлено, что у больных эхинококкозом печени значимо увеличена концентрация МДА, как в плазме крови, так и в мембранах эритроцитов, которая превышает уровень у здоровых в 2,4 раза и 4 раза соответственно (табл. 1).

Однако после проведенного курса этиотропного лечения альбендазолом у пациентов сохраняется высокий уровень МДА, его концентрация в плазме и эритроцитах у этой группы превышает уровень здоровых на 148 и 290 % соответственно, но значимо не отличается от показаний исходного уровня. Следовательно, курсовое лечение альбендазолом не снижает напряженность активных процессов ПОЛ в организме, несмотря на активное уничтожение паразита. Вместе с тем наблюдается положительная динамика в клинической симптоматике больных, что позволяет предположить снижение воспалительных процессов, вызванных жизнедеятельностью паразита.

Поскольку процессы свободно-радикального окисления липидов контролируются единой антиоксидантной системой, нами был проведен анализ её составляющих (неферментативной и ферментативной), поддерживающих этот уровень продуктов перекисаации. Получены следующие результаты. Неферментативное звено оценивали по концентрации 2 веществ: церулоплазмينا и мочевой кислоты. Установлено, что исход-

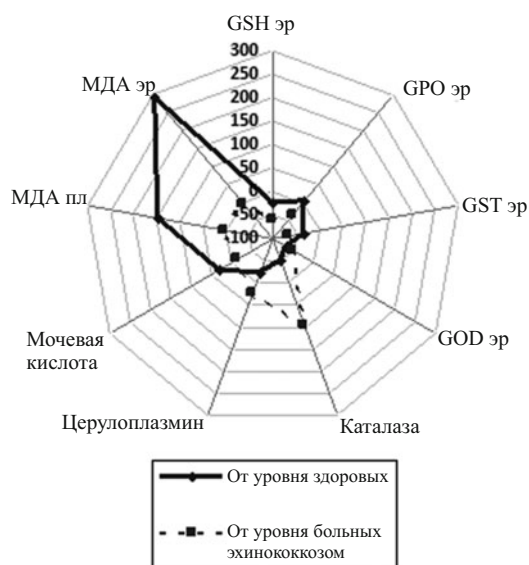
но низкий уровень церулоплазмينا у больных эхинококкозом печени (по сравнению со здоровыми снижен на 40 %) после проведенной противопаразитарной терапии возрастает. Известно, что белок церулоплазмин, обладающий мощным антиоксидантным действием, вырабатывается гепатоцитами, и увеличение его концентрации в плазме больных после курсового лечения альбендазолом можно расценивать как свидетельство нормализации функционального состояния клеток печени, которые начинают продуцировать церулоплазмин, но в меньшей концентрации, чем у здоровых (отклонение составило – 25,1 %) (рисунок).

Концентрация второго антиоксиданта — мочевой кислоты — после проведенной терапии снизилась на 13,8 % по сравнению с исходным уровнем, но превысила уровень у здоровых. Как известно, мочевая кислота обладает как анти-, так и прооксидантными свойствами. Высокая концентрация этого метаболита, выявленная у больных эхинококкозом, может способствовать деструктивным изменениям клеточных мембран, поэтому снижение уровня мочевой кислоты в крови лиц, прошедших противопаразитарную терапию альбендазолом, можно рассматривать как свидетельство уменьшения степени выраженности воспалительного процесса.

Следовательно, неферментативное звено антиоксидантной системы у больных эхинококкозом печени изменяет свою функциональную активность как при развитии патологического процесса, так и под влиянием проводимой антигельминтной терапии альбендазолом.

Как известно, ферментативные антиоксиданты характеризуются высокой специфичностью действия, а также клеточной и органной локализацией, и их активность находится под генетическим контролем. Основными ферментативными системами защиты от процессов ПОЛ являются СОД, глутатионовый комплекс, а также каталаза и пероксидаза. Активность этих систем у больных эхинококкозом печени отличается от показателей здоровых.

Активность СОД как при поступлении, так и после проведенного лечения альбендазолом, остается у больных эхинококкозом печени ниже уровня здоровых, в то время как активность каталазы возрастает и превышает уровень контроля на 50,3 %. Этот факт свидетельствует об активации ферментативного звена антиоксидантной системы, поскольку каталаза “рабо-



Процентное отклонение концентрации показателей про/антиоксидантной системы после проведенной противопаразитарной терапии альбендазолом у больных эхинококкозом печени.

тает” и в тканях печени, почек, а также обеспечивает стабильность мембран клеточных элементов крови. Известно, что ферменты глутатионового комплекса активизируются в условиях окислительного стресса, нейтрализуя токсическое влияние электрофильных соединений (как катионных, так и анионных белков). После проведенного курса антигельминтной терапии активность ведущих ферментов глутатионового звена у больных в целом снижена относительно уровня контроля (рисунок, табл. 2). Это также может свидетельствовать о снижении интенсивности процессов воспаления, вызванных эхинококком.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что после проведения противопаразитарной терапии работа антиоксидантной системы (как неферментативной, так и ферментативной) находится в относительном равновесии, поскольку сопровождается накоплением МДА, уровень которого не снижается. На фоне лечения альбендазолом активность СОД и ферментов глутатионового звена АОС снижается по сравнению с исходным уровнем, приближаясь к показателям здоровых. Важнейшим ферментом, участвующим в дисмутации супероксидного радикала, является каталаза, её активность в эритроцитах на фоне проти-

Таблица 1. Концентрация МДА в эритроцитах и плазме крови у больных эхинококкозом печени до и после медикаментозной терапии (Ме [Q25 – Q75])

Показатель	Больные эхинококкозом печени, n = 30	Больные после курса альбендазола, n = 30	Здоровые, n = 30	Достоверность различий
	1	2	3	
МДА плазма, мкмоль/л	3,00 [2,61 – 3,43]	3,10 [2,63 – 3,27]	1,25 [1,05 – 1,56]	$p_{1,2-3} < 0,01$ $p_{1-2} > 0,05$
МДА эритроциты, мкмоль/г Нб	11,445 [9,215 – 12,960]	11,10 [10,00 – 12,50]	2,845 [2,430 – 3,785]	$p_{1,2-3} < 0,001$ $p_{1-2} > 0,05$

вопаразитарной терапии значительно возрастает, превышая уровень контроля (до лечения её активность, наоборот, была сниженной), что обеспечивает относительную антиоксидантную защиту клеточных мембран, поддерживая концентрацию МДА на стабильном уровне.

Таким образом, результаты проведенных исследований выявили определенную положительную динамику функционального состояния про/антиоксидантной системы у больных эхинококкозом печени после проведенной противопаразитарной терапии, которая приводит к прекращению механического сдавливания органа, действия метаболитов паразита на организм хозяина, снижению проявлений воспалительного процесса, изменению активности составляющих звеньев антиоксидантной системы.

Был проведен факторный анализ основных показателей свободно-радикального окисления у здоровых и больных эхинококкозом печени (до и после проведенной противопаразитарной терапии) с целью выяснения значимости составляющих звеньев антиоксидантной защиты при исследуемых состояниях. Из вида построенной матрицы факторных нагрузок следует, что главная компонента определяется концентрацией продуктов липидной перекисидации — уровнем МДА как в эритроцитах, так и плазме во всех представленных группах. Характер приведенных переменных дает возможность считать, что эта главная компонента по набору основных весовых характеристик практически однозначна, что позволяет её использовать для описания состояния исследуемой системы.

Установлено, что знаки весовых нагрузок для некоторых параметров у больных эхинококкозом печени противоположны по отношению к здоровым лицам. Это обстоятельство является подтверждением нарушения баланса в про/антиоксидантной системе, вызванной метаболическими перестройками, возникающими в результате развития патологического процесса.

Уравнения регрессии, описывающие взаимодействие между уровнем МДА и компонентами АОС выявили различную степень вовлеченности составляющих этой системы в процесс защиты от продуктов перекисидации.

Для здоровых уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$\text{МДА} = -0,99 \cdot \{\text{глутатионовый комплекс}\} + 0,88 \cdot \text{СОДэ} + 0,71 \cdot \text{МК}.$$

Для больных эхинококкозом печени соответственно:

$$\text{МДА} = -0,99 \cdot \{\text{глутатионовый комплекс}\} + 0,8 \cdot \text{СОДэ} + 0,85 \cdot \text{Кат}.$$

Для больных, получавших этиотропную терапию альбендазолом:

$$\text{МДА} = -0,99 \cdot \{\text{глутатионовый комплекс}\} + 0,99 \cdot \text{СОДэ} + 0,92 \cdot \text{Кат} + 0,82 \cdot \text{МК} + 0,78 \text{ ЦП}.$$

Проведенный факторный анализ позволил выявить взаимозависимости в про/антиоксидантной системе на фоне проводимой терапии. Согласно полученным данным, изменяется активность составляющих АОС: снижается роль глутатионового звена и СОД (для этих показателей в данной группе больных изменяется направленность факторных нагрузок при сохранении значимости связи), при этом активность каталазы возрастает. Неферментативная АОЗ также изменяется: после проведенного лечения альбендазолом состояние клеток печени, продуцирующих важнейший высокомолекулярный антиоксидант — церулоплазмин — способствует повышению его концентрации, и появляется значимая факторная нагрузка при анализе работы про/антиоксидантной системы. Кроме этого, концентрация мочевой кислоты в плазме имеет тенденцию к снижению (приближению к уровню контроля), что может расцениваться как положительный эффект терапии, поскольку параллельно с этим снижается её деструктивное влияние на клеточные мембраны.

Таким образом, курсовое применение альбендазола у пациентов с эхинококкозом сопровождается изменением показателей процессов свободно-радикального окисления липидов. Выяснение подробного механизма обнаруженного эффекта будет полезно для оптимизации фармакотерапии при проведении противопаразитарного лечения при данном гельминтозе.

Таблица 2. Показатели антиоксидантного статуса у больных эхинококкозом печени после проведенного курса лечения (Ме [Q25 – Q75])

Показатель	После курса альбендазола, n = 30	Больные эхинококкозом, n = 30	Достоверность различий
<b>Неферментативные антиоксиданты</b>			
Церулоплазмин, мг/л	196,90 [149,23 – 295,30]	160,00 [131,50 – 198,50]	p < 0,05
Мочевая кислота, мкмоль/л	313,50 [291,00 – 332,00]	363,00 [263,50 – 452,50]	p < 0,05
<b>Ферменты-антиоксиданты</b>			
GSHэ, мкмоль/гНб	1,77 [1,33 – 4,52]	4,36 [3,96 – 5,41]	p > 0,05
GPOэ, мкмоль/мин/ гНб	80,5 [69,5 – 100,3]	119,00 [106,00 – 128,00]	p > 0,05
GSTэ, ммоль/мин/гНб	1,55 [1,26 – 2,24]	4,64 [3,99 – 4,92]	p > 0,01
СОДэ, усл. ед. · мин/г Нб	1376 [1368,00 – 1380,00]	2757,50 [2022,00 – 3419,00]	p < 0,01
Каталаза, мкмоль · мин/г Нб	227,7 [222,50 – 236,30]	118,50 [86,50 – 128,50]	p > 0,01

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с эхинококкозом выявлено повышение уровня МДА в плазме крови и в мембранах эритроцитов в 2,4 раза и 4 раза соответственно, снижение уровня церулоплазмينا на 40 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с пациентами контрольной группы.

2. Противопаразитарная терапия альбендазолом (внутри в дозе 400 мг 2 раза в сутки по схеме в течение 28 дней, 3 курса в год) больных эхинококкозом печени приводит к изменению функциональной активности гепатоцитов и определенной динамике свободно-радикальных процессов: увеличивается уровень церулоплазмينا в плазме крови (на 23,1 %,  $p < 0,01$ ), повышается активность каталазы (на 92,2 %,  $p < 0,01$ ), остается на низком уровне активность ферментов глутатионового комплекса и СОД по сравнению с исходными показателями пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. О. Э. Абагуров, О. П. Волосовец, Е. И. Юлиш, *Здоровье ребенка*, № 8, 88 – 93 (2014).

2. С. Гланц, *Медико-биологическая статистика*, Практика, Москва (1998).
3. И. В. Давыдова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (2007).
4. О. Н. Домашенко, А. Д. Шаталов, Д. С. Паниева, *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Мед. науки*, № 3, 35 – 40 (2016).
5. А. В. Зангинян, Г. С. Казарян, Л. М. Овсепян, *Инфекция и иммунитет*, 2(3), 661 – 664 (2012).
6. М. А. Корольюк, Л. И. Иванова, И. Т. Майорова, *Лаб. дело*, № 1, 16 – 19 (1998).
7. *Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы*, А. И. Карпищенко (ред.), ГЭОТАР-Медиа, Москва (2014).
8. Т. В. Сирота, *Биомед. химия*, 59(4), 399 – 410 (2013).
9. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*, В. С. Камышников (ред.), МЕД-пресс-информ, Москва (2009).
10. G. Shyam Prasad, S. Girisham, S. M. Reddy, *Indian. J. Exp. Biol.*, 48(4), 415 – 420 (2010).
11. J. B. Taxu, W. E. Gibson, M. W. Kaufman, *Am. J. Surg. Pathol.*, 41(1), 94 – 100 (2017).

Поступила 31.08.18

## THE INFLUENCE OF ALBENDAZOL ON THE FREE-RADICAL OXIDATION OF LIPIDS IN PATIENTS WITH LIVER ECHINOCOCCOSIS

L. A. Mikhailova<sup>1</sup>, N. A. Maslennikova<sup>2</sup>, and E. P. Tikhonova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Š. Zheleznyaka 1, Krasnoyarsk, 660022 Russia

<sup>2</sup> Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital, ul. Д. Zheleznyaka 3, Krasnoyarsk, 660022 Russia

We presents the results of studying the parameters of lipid peroxidation and constituent units of the antioxidant system in a group of 30 patients of both sex aged over 18 with liver echinococcosis diagnosis, before and after antiparasitic therapy with albendazole (400 mg twice per day for 28-day treatment three times a year). The control group consisted of 30 relatively healthy volunteers of the same age. The concentrations of malonic dialdehyde (MDA), ceruloplasmin, and uric acid were determined together with the activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase. In comparison to the control group, patients with echinococcosis exhibited (i) 2.4- and 4-fold increased MDA level in the blood plasma and erythrocyte membranes, respectively, and (ii) 40% decreased ceruloplasmin level ( $p < 0.01$ ). Upon the aforementioned course of therapy, the level of MDA (intermediate product of lipid peroxidation) in the test group did not change significantly. The observed increase in ceruloplasmin concentrations (by 23 %,  $p < 0.05$ ) and catalase activity (by 92.2%,  $p < 0.01$ ) was accompanied by decrease in the activity of superoxide dismutase and enzymes of the glutathione complex. Results of the factor analysis showed that the current etiotropic therapy changed the degree of involvement of various components of the antioxidant system into maintaining the balance of free radical lipid oxidation processes in patients with liver echinococcosis. In conclusion, the antiparasitic therapy with albendazole did not change the amount of lipid peroxidation products, but activated the synthesis of ceruloplasmin (antioxidant protein) produced by hepatocytes, which is evidence of normalization of the liver function and synthetic activity upon the elimination of parasites.

**Keywords:** albendazole; antioxidant system; catalase; malonic dialdehyde; free radical oxidation; superoxide dismutase; liver echinococcosis.