

Л. А. Куликова<sup>1</sup>, В. С. Рабжинов<sup>2</sup>, С. Г. Штофин<sup>3</sup>, Д. Д. Цырендоржиев<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный университет  
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>2</sup> Дульдургинская центральная районная больница  
ул. 50 лет Октября, 68, с. Дульдурга, Забайкальский край, 687200, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский государственный медицинский университет  
Красный проспект, 52, Новосибирск, 630091, Россия

<sup>4</sup> НИИ клинической иммунологии СО РАМН  
ул. Ядринцевская, 14, Новосибирск, 630091, Россия

E-mail: lakulikova@mail.ru

## ПРО- И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ С РУБЦОВЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ВНЕПЕЧЕНОЧНЫХ ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКОВ

Проведено сравнительное изучение про- (ПОА) и антиоксидантной активности (АОА) сыворотки крови больных с рубцовыми стриктурами внепеченочных желчных протоков (ВЖП) в отдаленные сроки наблюдения после традиционного оперативного вмешательства ( $n = 32$ ) и применения сверхэластичных никелид-титановых стентов ( $n = 19$ ) для разработки патогенетических критериев оценки эффективности реконструктивно-восстановительных операций. ПОА и АОА сыворотки крови обследованных лиц проводили с помощью хемилюминесцентного метода исследования. Показано, что у 42,9 % больных с рубцовыми стриктурами ВЖП, оперированных традиционно, сохранялся высокий уровень ПОА сыворотки крови, тогда как в основной группе наблюдался лишь у 27,8 % случаев. У больных с никелид-титановыми стентами АОА сыворотки крови была достоверно выше, чем в группе традиционного лечения. Доказана высокая эффективность использования стентов-дилататоров из сверхэластичного никелида титана у больных со стриктурами ВЖП.

*Ключевые слова:* желчные протоки, стриктура, стенты, активные метаболиты кислорода, антиоксиданты.

Лечение рубцовых стриктур и поврежденный желчных протоков представляет сложную и окончательно нерешенную проблему хирургической гепатологии. Многочисленные клинические исследования показали, что наиболее частой причиной возникновения рубцовых стриктур внепеченочных желчных протоков (ВЖП) является их травматическое повреждение, возникающее, главным образом, при операциях на желчном пузыре и протоках, желудке, поджелудочной железе [1–4].

В арсенале реконструктивно-восстановительной хирургии рубцовых стриктур ВЖП имеется широкий набор подходов, оперативных пособий и методик, включая стенты из различных материалов. В частности, при реконструктивно-восстановительном лечении больных с данной патологией в послед-

ние два десятилетия активно используются хирургические методики с использованием никелид-титановых стентов [5–7]. Однако их эффективность до сих пор определяется только данными общепринятых лабораторных методов исследования. Это не позволяет объективно оценивать структурно-функциональные изменения на месте оперативного вмешательства и в желчных путях, поскольку известно, что при любых операциях активизируется воспалительный процесс, исходом которого может быть гиперплазия и фиброзирование не только стенок желчных протоков, но и окружающей их ткани. В этом случае увеличивается риск повторного развития рубцовых стриктур.

Общеизвестно, что в патогенезе воспаления и поствоспалительного фиброза важную роль играют процессы свободнорадикально-

го окисления (СРО), выраженность которых зависит от баланса прооксидантных (активные метаболиты кислорода и продукты перекисного окисления липидов) и антиоксидантных факторов защиты (жиро- и водорастворимые антиоксиданты) [8].

**Цель** исследования – провести сравнительное изучение про- и антиоксидантной активности сыворотки крови больных с рубцовыми стриктурами ВЖП в отдаленные сроки наблюдения после традиционного оперативного вмешательства и при применении сверхэластичных никелид-титановых стентов для разработки патогенетических критериев оценки эффективности реконструктивно-восстановительных операций.

### Материал и методы

В период с 2001 по 2007 г. обследован 51 больной с рубцовыми стриктурами ВЖП, госпитализированные в клинику кафедры общей хирургии Новосибирского государственного медицинского университета на базе МУЗ Городская клиническая больница № 25 г. Новосибирска и в Центральную клиническую больницу СО РАН (Новосибирск) для реконструктивно-восстановительного лечения.

В зависимости от метода хирургического лечения обследованные больные были разделены на две группы. В 1-ю (основную) группу включены 19 пациентов с рубцовыми стриктурами ВЖП, которым при хирургическом лечении использованы никелид-титановые стенты. Средний возраст больных составил  $55,2 \pm 6,4$  года. Больным основной группы установлены сетчатые пористые стенты из никелид-титанового сплава марки ТН-10 различной длины (15–30 мм) и диаметра (10–15 мм). Во 2-ю группу (сравнения) включены 32 человека с тем же диагнозом, оперированных традиционными методами хирургического лечения: пластика общего желчного протока (ОЖП) по Микуличу ( $n = 3$ ); билиодигестивный анастомоз (БДА) на сменных транспеченочных дренажах ( $n = 20$ ); создание БДА с использованием прецизионной техники шва ( $n = 5$ ); наложение гепатикоеюноанастомоза по Ру ( $n = 4$ ). Средний возраст лиц составил  $53,7 \pm 5,6$  года. Все пациенты обследовались через 3–5 лет после операции (в среднем  $4,3 \pm 0,4$  года).

Для сравнительного анализа результатов исследования в качестве контрольной группы выступили 24 донора, признанные практически здоровыми. Средний возраст лиц в данной группе был равен  $44,5 \pm 2,4$  года.

Пациенты и здоровые доноры включены в исследование на основании их информированного согласия в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003.

При поступлении в стационар больным проводилось комплексное обследование для определения типа холестаза и его основных причин, уровня расположения стриктуры ВЖП и ее протяженности, объективной оценки состояния дистального отдела общего желчного протока (ОЖП). Для диагностики стриктур ВЖП больным проводили ультразвуковое исследование, эндоскопическую ретроградную холангиопанкреатографию (ЭХПГ), чрескожную чреспеченочную холангиографию (ЧЧХГ), фистулографию с использованием водорастворимых йодсодержащих контрастных веществ (верографин, урографин).

Определение прооксидантной активности (ПОА) сыворотки крови проводили по методике Д. Н. Маянского и соавт. [9] с использованием метода хемилюминесцентного анализа. Общую антиоксидантную активность (АОА) сыворотки крови определяли с помощью хемилюминометра (ХЛ) по степени торможения суммарной ХЛ светимости, запускаемой 3 %  $H_2O_2$ , по модифицированному методу А. И. Журавлёва и А. И. Журавлёвой [10]. Все хемилюминесцентные исследования проводились с помощью биохемилюминометра «СКИФ-0306М» (СКТБ «Наука», Россия). Для изучения взаимодействия про- и антиоксидантной системы рассчитывали коэффициент их соотношения ( $K_c$ ), который определялся по формуле  $K_c = POA/AOA$ .

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 5.0 и Microsoft Excel 7.0. При анализе результатов проводилась оценка значимости различий двух средних арифметических значений по  $t$ -критерию Стьюдента. Различия сравниваемых

показателей считались достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и обсуждение

При поступлении все больные предъявляли жалобы на боли в правом подреберье, слабость, кожный зуд, снижение массы тела, горечь во рту, потемнение мочи и желтушность кожных покровов и склер. При объективном осмотре состояние больных расценивали как средней и тяжелой степени тяжести. При ультразвуковом исследовании выявлены гепатомегалия, диффузные изменения паренхимы печени по типу фиброза, деформация желчного пузыря, калькулез и расширение холедоха. При проведении РХПГ у всех больных диагностировано сужение дистального отдела холедоха на протяжении более 1 см, выше сужения – расширение холедоха от 1 до 2,5 см. Содержание прямого и общего билирубина, активность АЛат, АСаТ, щелочной фосфатазы, мочевины крови и  $\alpha$ -амилазы мочи у пациентов были выше в 2–3 раза нормативных значений.

Результаты исследования ПОА и АОА сыворотки крови больных представлены в таблице. ПОА сыворотки крови здоровых доноров варьировала от 0,21 до 0,55 усл. ед. На отдаленных сроках исследования после выполнения традиционного хирургического лечения ПОА сыворотки крови больных 2-й группы варьировала в широких пределах: от 0,37 до 1,3 усл. ед, что в среднем в 2,9 раза превышало контрольные значения ( $p < 0,001$ ). При этом у 42,9 % больных ( $n = 12$ ) этой группы индивидуальные пока-

затели ПОА превышали максимальное значение контроля.

Анализ результатов исследования показал, что ПОА сыворотки крови больных 1-й группы достоверно превышал среднее контрольное значение ( $p < 0,05$ ), но был достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у лиц 2-й группы. Отметим, что только у 5 (27,8 %) пациентов 1-й группы сохранялись высокие значения ПОА, превышающие 0,55 усл. ед. (максимальная величина в контрольной группе).

При исследовании ОАО сыворотки крови у больных с рубцовыми стриктурами ВЖП, определяемой по степени расщепления 3 %  $H_2O_2$  с помощью ХЛ метода, также выявлены отличия между группами. Показатель ОАО отражает совокупное действие факторов антиоксидантной системы защиты, имеющихся в тестируемых биологических жидкостях, т. е. ее общую антиоксидантную активность. Среднее значение АОА сыворотки крови здоровых лиц варьировало от 7,8 до 13,3 усл. ед. У больных 2-й группы среднее значение АОА сыворотки крови было в 1,6 раза ниже ( $p < 0,05$ ), чем в контрольной группе (см. табл.). При этом наименьшие величины АОА зафиксированы у пациентов, прооксидантный потенциал сыворотки крови которых выявлен высоким. У пациентов 1-й группы АОА сыворотки крови варьировала в пределах от 6,1 до 23,3 усл. ед. Оценка результатов АОА сыворотки крови лиц 1-й группы показала, что данный параметр был в 2,2 раза выше, чем у больных 2-й группы ( $p < 0,05$ ).

Для оценки баланса в системе «оксидант – антиоксидант» произведены расчеты  $K_c$  между показателями ПОА и АОА сыворотки крови больных разных групп. Анализ дан-

Показатели про- и антиоксидантной активности сыворотке крови у больных с рубцовыми стриктурами ВЖП в отдаленные сроки наблюдения после выполнения реконструктивно-восстановительных операций,  $M \pm m$

| Группа      | n  | Показатели, усл. ед.       |                         |                          |
|-------------|----|----------------------------|-------------------------|--------------------------|
|             |    | ПОА                        | АОА                     | $K_c$                    |
| 1-я         | 15 | 0,54 ± 0,05 <sup>*,#</sup> | 14,1 ± 0,7 <sup>#</sup> | 0,04 ± 0,02 <sup>#</sup> |
| 2-я         | 10 | 0,98 ± 0,07 <sup>*</sup>   | 6,3 ± 0,4 <sup>*</sup>  | 0,16 ± 0,05 <sup>*</sup> |
| Контрольная | 9  | 0,34 ± 0,03                | 10,1 ± 0,62             | 0,03 ± 0,01              |

Примечание: \* – достоверность отличия результатов по сравнению с данными контрольной группы; # – достоверность отличия результатов по сравнению с данными 2-й группы ( $p < 0,05$ ).

ного параметра позволяет объективно оценивать выраженность окислительного стресса, который отражает дисбаланс в изучаемой системе [11]. Результаты расчета коэффициента соотношения ПОА/АОА сыворотки крови представлены в таблице (см. выше). Среднее значение  $K_C$  у здоровых лиц (контроль) составило  $0,03 \pm 0,01$  усл. ед. У пациентов 2-й группы  $K_C$  значительно варьировал; он был выше, чем у лиц из группы контроля и больных 1-й группы в 5,3 и 4,0 раза соответственно ( $p < 0,001$ ).

Таким образом, в отдаленные сроки наблюдения у 27,8 % больных, оперированных с использованием никелид-титановых стентов, сохранялась высокая ПОА сыворотки крови, тогда как в группе сравнения (традиционное хирургическое лечение) таковых оказалось 42,9 % случаев. Следовательно, у пациентов 2-й группы свободнорадикальные процессы протекали активнее, чем у здоровых. В то же время в 1-й группе было значительно больше пациентов с нормальными показателями прооксидантного статуса. Кроме того, у пациентов 1-й группы антиоксидантный статус был достоверно выше, чем у лиц 2-й группы. Причем у больных 2-й группы параметры, отражающие антиоксидантный статус сыворотки крови, были достоверно ниже, чем у здоровых. Высокое значение  $K_C$  свидетельствует о выраженности окислительного стресса за счет активации процессов свободнорадикального окисления на фоне снижения факторов системы антиоксидантной защиты [11].

В настоящее время накопилось достаточно фактов, свидетельствующих об участии активных метаболитов кислорода в клеточной пролиферации, опухолевой трансформации и гибели клеток [12]. Известно, что развитие окислительного стресса при воспалении, который наблюдается не только при холецистите, но и различных хирургических вмешательствах, одновременно является сигналом для клеточной пролиферации и апоптоза определенных клеточных клонов. Так, имеются данные, свидетельствующие о том, что антиоксиданты обладают выраженным антипролиферативным действием [13]. Отсюда следует, что у больных 2-й группы на фоне низких значений АОА, вероятно, усиливались пролиферативные процессы, прежде всего фиброзные преобразования тканей *in situ*, что повышает риск развития

повторного сужения ВЖП. Косвенным свидетельством данного утверждения могут служить результаты анализа  $K_C$ , которые указывают на то, что у больных 2-й группы наблюдалось более выраженное проявление окислительного стресса, что может способствовать активации фиброгенеза. Так, в исследовании С. Nathan [14] показано, что развитие окислительного стресса в легких может индуцировать апоптоз пневмоцитов II типа, а также усиливать пролиферацию фибробластов. Можно предположить, что сохранение высокого уровня прооксидантного потенциала в сыворотке больных после оперативных вмешательств, особенно после реконструктивно-восстановительных, выполненных традиционными хирургическими методами, может активировать фиброгенез, что повышает риск повторного развития стриктуры ВЖП.

### Заключение

У 42,9 % больных с рубцовыми стриктурами ВЖП, оперированных традиционными методами хирургического лечения, сохранялся высокий уровень ПОА сыворотки крови, тогда как у лиц 1-й группы данная ситуация наблюдалась реже, в 27,8 % случаев. При этом в 1-й группе больных АОА сыворотки крови была достоверно выше, чем во 2-й группе. При этом у пациентов 2-й группы параметры, отражающие антиоксидантный статус сыворотки крови, были достоверно ниже, чем у здоровых доноров. Следовательно, в отдаленные сроки наблюдения после выполнения традиционных методов хирургического лечения у 42,9 % больных со стриктурами ВЖП развивался окислительный стресс за счет активации процессов СРО на фоне снижения факторов системы антиоксидантной защиты. Результаты клинико-инструментального исследования и оценки соотношения ПОА и АОА сыворотки крови позволяют сделать вывод о высокой эффективности использования стентов-дилататоров из сверхэластичного никелида титана у больных со стриктурами ВЖП.

### Список литературы

1. Гальперин Э. И., Чевокин А. Ю., Кузовлев Н. Ф., Дюжсва Т. Г. Диагностика и лечение различных типов высоких рубцовых

стриктур печеночных протоков // Хирургия. 2004. № 5. С. 26–31.

2. *Bezzi M., Cantisani V., Zolovkins A.* Percutaneous Treatment of Benign Biliary Strictures: Long Term Results (13 Years Follow-Up) // *Eur Radiol.* 2000. Vol. 10 (Suppl. 1). P. S258–S261.

3. *Lillemoe K. D., Melton G. B., Cameron J. L.* Postoperative Bile Duct Strictures: Management and Outcome in the 1990's // *Ann. Surg.* 2000. Vol. 232. P. 430–441.

4. *Ward J., Sheridan M. B., Guthrie J. A.* Bile Duct Strictures after Hepatobiliary Surgery: Assessment with MR Cholangiography // *Radiology.* 2004. Vol. 231. P. 101–108.

5. *Дамбаев Г. Ц., Гюнтер В. Э., Радионченко А. А.* Пористые проницаемые сверхэластичные имплантаты с памятью формы в хирургии. Томск, 1996. 174 с.

6. *Дамбаев Г. Ц., Соловьёв М. М., Фатушина О. А.* Новые методы формирования компрессионных анастомозов. Томск, 2001. 214 с.

7. *He G.-J., Gao Q.-Y., Xu Sh.-H., Jiang T., Dai X.-W., Ma K.* <sup>103</sup>Pd Radiactive Stent Inhibits Biliary Duct Restenosis and Reduces Smooth Muscle Actin Expression during Duct Healing in Dogs // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. In.* 2006. Vol. 5, № 4. P. 595–598.

8. *Маянский Д. Н.* Лекции по клинической патологии. М., 2007. 464 с.

9. *Маянский Д. Н., Цырендоржиев Д. Д., Макарова О. П., Зубахин А. А.* Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Новосибирск, 1996. Ч. 2: Определение биоцидности лейкоцитов. 47 с.

10. *Журавлев А. И., Журавлева А. И.* Сверхслабое свечение сыворотки крови и его значение в комплексной диагностике. М., 1975. 185 с.

11. *Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б.* Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты. М., 2001. 343 с.

12. *Cherutti P. A., Trump B. F.* Inflammation and Oxidative Stress in Carcinogenesis // *Cancer Cells.* 1991. Vol. 3. P. 1–7.

13. *Chan W.* Cellular Interactions of Vitamin E, Cytokines and Growth Factors // *Nutr. Res.* 1996. Vol. 16. P. 427–434.

14. *Nathan C.* Nitric Oxide as a Secretory Product of Mammalian Cells // *FASEB. J.* 1992. Vol. 6. P. 3051–3064.

*Материал поступил в редколлегию 11.10.2010*

**L. A. Kulikova, V. S. Rabzhinov, S. G. Shtofin, D. D. Cyrendorzhev**

#### **PRO-AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH STRICTURES OF EXTRAHEPATIC BILE DUCTS**

A comparative study of pro- (POA) and antioxidant activity (AOA) of blood serum of patients with strictures of extrahepatic bile ducts (EHBD) at remote terms after traditional surgical intervention of (32 patients) and the use of superelastic nickel-titanium stent (19) for the development of pathogenic criteria for evaluating the effectiveness of reconstructive surgery. POA and AOA of blood serum pro-examined persons were taken using a chemiluminescent method of investigation. The results showed that 42.9 % of patients with strictures of EHBD operated by traditional methods of surgical treatment is preserved, is a high level of serum POA, whereas in the experimental group — was observed in only 27.8 % of cases. In the I-th group of patients with serum AOA was significantly higher than in the comparison group. Thus, the results of clinical and instrumental examination and evaluation of the relations POA and AOA of blood serum suggests that the high efficiency of the use of stent-dilator of superelastic Ni-Ti with stricture EHBD.

*Keywords:* bile ducts, stricture, stents, reactive oxygen metabolites, antioxidants.