

*С.В. Якубовский 1, С.В. Ткачев 2, Д.П. Кривонос 3*  
**Динамика некоторых показателей перекисного окисления  
липидов и антиоксидантной защиты у больных острым  
холециститом**

*БГМУ1,*

*ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены»2,  
Республиканская больница КИНЗ*

Установлено, что у больных острым холециститом развиваются выраженные изменения в системе ПОЛ-АОС, проявляющиеся накоплением в крови МДА и снижением уровня ферментативных и неферментативных составляющих АОС. Холецистэктомия усугубляет нарушения окислительного гомеостаза, уменьшая активность ГР, СОД, каталазы при сохранении низкого содержания G-SH и SH-групп. Установлено, что изменения окислительного гомеостаза по своей длительности превышают клиническое течение заболевания, существующие схемы консервативной терапии не позволяют устранить явления оксидативного стресса. Ключевые слова: острый холецистит, холецистэктомия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

В настоящее время острый холецистит (ОХ) является одним из наиболее распространенных острых хирургических заболеваний органов брюшной полости (2,26,27). Несмотря на совершенствование хирургической тактики, уровень летальности и количество послеоперационных осложнений при данной патологии достаточно высоки, прежде всего у лиц пожилого и старческого возраста (3,16). По мнению ряда авторов, одной из причин летальных исходов после операций на желчевыводящих путях является нарушение компенсаторных механизмов гомеостаза, развитие и прогрессирование синдрома эндогенной интоксикации (ЭИ) (21,29,35,36). Существенным фактором, влияющим на развитие ЭИ, независимо от этиологии последней, является активация свободнорадикальных процессов и, в первую очередь, перекисного окисления липидов (ПОЛ) (6,22). ПОЛ-наиболее активный из процессов свободнорадикального окисления, протекающих в клетке (4). Биологическая значимость процессов ПОЛ проявляется в обновлении состава и поддержании свойств биомембран, регуляции их проницаемости, активности мембраносвязанных ферментов, синтезе биологически активных веществ (1,5). ПОЛ-сложный многостадийный процесс, имеющий каскадный характер, которому присуща разнообразная природа образующихся продуктов (1,5,6). Некоторые из продуктов ПОЛ, в том числе и малоновый диальдегид (МДА)-один из маркеров активности этого процесса, являются высокотоксичными для клеток организма (38). Интенсификация ПОЛ в условиях патологии вносит существенный вклад в развитие ЭИ (1). Буфером, препятствующим переходу ПОЛ из физиологического в патологическое, служит многокомпонентная многоуровневая саморегулирующаяся антиоксидантная система организма

(АОС) (1,5,6,8,9). Систему антиоксидантной защиты организма подразделяют на первичную и вторичную. Первичная АОС, представленная ферментами, неферментными белками и низкомолекулярными соединениями, ослабляет реакции инициации свободнорадикального окисления, уменьшая концентрации свободных радикалов. Вторичная АОС направлена на улавливание уже образовавшихся радикалов и прерывает реакции окисления на ранних стадиях. (1). Систему АОС подразделяют также на ферментативную и неферментативную. В ферментативную АОС входят: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидазы, глутатионредуктаза, глутатионтрансферазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, церулоплазмин. Неферментативная АОС включает различные по химическому строению и свойствам соединения (глутатион, аскорбат, небелковые SH-соединения, а-токоферол, витамин А, каротиноиды и др.) (1,8,9,10). Усиление свободнорадикальных процессов в условиях патологии приводит к нарушению существующего в физиологических условиях баланса между анти-и прооксидантными системами, т.е. к возникновению окислительного стресса. Последний является патогенетической основой изменения проницаемости клеточных мембран, функционирования мембраносвязанных ферментов и, в конечном итоге, приводит к тяжелым нарушениям клеточного метаболизма и существенным изменениям гомеостаза (5,23). Роль свободнорадикальных процессов в патогенезе ряда патологических состояний, в том числе воспалительных заболеваний органов брюшной полости не вызывает сомнений (7, 28, 30). Поэтому необходимость диагностики и возможность коррекции окислительного стресса в целях уменьшения ЭИ у больных хирургического профиля имеют принципиальное значение в условиях современной клиники.

Исследования, посвященные состоянию окислительного гомеостаза у больных ОХ немногочисленны. Так, имеющиеся в литературе данные свидетельствуют, что у больных ОХ в сыворотке крови повышается содержание продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, а также снижается содержание а-токоферола, супероксиддисмутазы и каталазы (12,18,28). Показано, что использование антиоксидантов-а-токоферола, унитиола, кверцетина, эмоксипина в комплексной терапии у больных ОХ оказывает терапевтический эффект (17,28). Отсутствие в доступной нам литературе достаточного количества данных не позволяет составить целостного представления о функционировании системы ПОЛ-АОС у больных ОХ при различных вариантах клинического течения процесса, в динамике пред-и послеоперационного периода. Недостаточно изучено состояние основных звеньев неферментативной АОС, нет сведений о наиболее уязвимых составляющих в системе антиоксидантной защиты при билиарной патологии. Не указаны наиболее информативные показатели АОС, которые могут быть использованы для объективной оценки эффективности современных антиоксидантных препаратов в комплексной терапии больных ОХ.

В соответствии с изложенным выше, целью предпринятого нами исследования явилось изучение интенсивности перекисного окисления липидов, а также состояния ряда звеньев ферментативной и неферментативной АОС у больных ОХ в динамике пред- и послеоперационного периода.

#### Материал и методы

Обследовано 42 больных, поступивших в 10 ГКБ г. Минска с диагнозом острый холецистит. Длительность заболевания составила от 6 до 48 часов. В зависимости от эффективности консервативного лечения все больные были разделены на 2 клинические группы. В 1-ю группу вошли 20 больных, консервативное лечение у которых привело к регрессу клинических симптомов. Из них 14 человек были выписаны без операции, а 6 прооперированы в отсроченном порядке. У этих пациентов при морфологическом исследовании желчного пузыря не было выявлено деструктивных изменений. 2-ю группу составили 22 человека, у которых консервативная терапия оказалась неэффективной, и им через 48-72 часа от поступления в клинику было выполнено оперативное вмешательство. У всех пациентов данной группы при гистологическом исследовании были выявлены деструктивные изменения в стенке желчном пузыре. Контрольную группу составили 15 практически здоровых доноров.

Определение показателей ПОЛ и АОС производилось в день поступления, перед операцией или на 2-3 сутки пребывания в стационаре, а также после операции-на 2-3-и и 7-8-е сутки.

Интенсивность ПОЛ оценивали по уровню накопления малонового диальдегида (МДА). Содержание МДА в гемолизатах крови проводили по методу (32). Состояние АОС оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионредуктазы (ГР), содержанию глутатиона восстановленного (G-SH) и свободных SH-групп. Активность СОД в гемолизатах крови определяли методом (39) в модификации (31), активность каталазы – методом (19), активность G-SH в гемолизатах – по реакции с аллоксаном при длине волны 305 нм (20), ГР в гемолизатах – методом (34), содержание свободных SH-групп в гемолизатах методом (40). Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета прикладных программ MS Excel и «Statistica 6.0 for Windows», достоверность различий показателей оценивалась с использованием критерия Стьюдента при уровне значимости  $p < 0,05$ . Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде  $M \pm m$ , где M-средняя арифметическая, m-стандартная ошибка средней.

#### Результаты и обсуждение

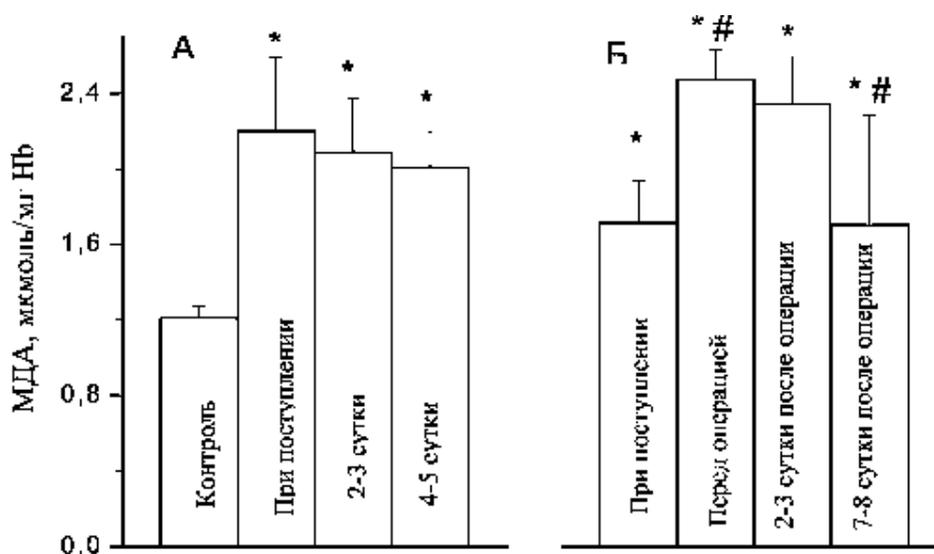


Рис. Содержание МДА в гемолизатах крови больных острым холециститом  
Примечание: А – 1-я группа, Б – 2-я группа;

\* – достоверно по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ ;

# – достоверно по сравнению с предыдущим измерением при  $p < 0,05$ .

Как видно из данных рисунка, у всех больных ОХ при поступлении в стационар отмечалось статистически достоверное повышение содержания МДА в гемолизатах крови по сравнению с контролем, что согласуется с имеющимися в литературе данными (29) и свидетельствует об интенсификации процессов перекисного окисления липидов у больных ОХ. Несмотря на проводимую консервативную терапию, у всех больных 1-й группы на 2-3 сутки пребывания в стационаре сохранялся повышенный уровень МДА, превышающий контрольный на 72,2%. На 4-5 сутки пребывания в стационаре содержание МДА практически не изменилось (169% от уровня контроля). У больных 2-й группы несмотря на проводимую в течение 48-72 час. консервативную терапию, отмечалось нарастание уровня МДА от 136,1% по сравнению с контрольным при поступлении, до 196,2%. В раннем послеоперационном периоде, на 2-3 сутки, у пациентов 2-й группы, отмечался повышенный уровень МДА, составляющий 186,0% от уровня контроля. Содержание МДА в послеоперационном периоде достоверно снижалось лишь к 7-м суткам, оставаясь, тем не менее, выше нормы на 64,0%.

Развитие окислительного стресса во многом определяется соотношением между прооксидантной и антиоксидантной системами. Как известно, СОД-первый барьер в системе ферментативной АОС, катализирующий реакции дисмутации активных супероксидных радикалов с образованием перекиси водорода и воды. Синергистом СОД является каталаза, препятствующая накоплению продуктов этой реакции и разлагающая перекись водорода на молекулы кислорода и воды. Между активностями этих ферментов существует определенная взаимосвязь (24).

Как видно из представленных в табл.1 данных, при поступлении больных ОХ в стационар накопление продуктов ПОЛ сопровождалось статистически

достоверным снижением активности СОД-до 79,2% и 80,0% от уровня контроля у больных 1-й и 2-й группы соответственно, а также незначительным-каталазы. На 2-3 сутки пребывания в стационаре у больных 1-й группы активность этих ферментов не изменилась, но на 4-5 сутки было отмечено повышение активности каталазы. У больных 2-й группы нарастание уровня МДА на 2-3 сутки пребывания в стационаре сопровождалось адаптивным увеличением активности каталазы. В раннем послеоперационном периоде отмечалась статистически достоверная депрессия активности СОД (до 57,9% от уровня контроля) и снижение активности каталазы. На 7-8 сутки послеоперационного периода активность каталазы повышалась, в то время как активность СОД составляла лишь 66,2% от контрольного уровня ( $p < 0,0$ ).

Таблица 1

Динамика изменений активности каталазы и СОД в гемолизатах крови больных острым холециститом ( $M \pm m$ )

Сроки определения	Показатели	
	Каталаза, мкмоль $H_2O_2$ /мг Нв/мин	СОД, Ед/мг Нв
Контроль	64,6±2,20	4,8±0,14
1-я группа		
При поступлении	63,71±2,70	3,79±0,26*
2-3 сутки	62,60±2,07	3,81±0,24*
4-5 сутки	71,65±2,01* #	4,03±0,17
2-я группа		
При поступлении	62,69±2,69	3,88±0,22*
Перед операцией	70,78±1,66*	4,33±0,79
2-3 сутки после операции	64,12±3,26#	2,78±0,22*
7-8 сутки после операции	71,38±2,61* #	3,18±0,47*

Примечание: \* – достоверно по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ ;

# – достоверно по сравнению с предыдущим измерением при  $p < 0,05$ .

Ключевым звеном неферментативной АОС считается восстановленный глутатион (G-SH). Функции G-SH многообразны: восстановление дисульфидных связей, влияние на активность ферментов и ряда белков, поддержание барьерных функций мембран, влияние на синтез белков и нуклеиновых кислот (13). Доказаны не только антиоксидантные, но и противовоспалительные эффекты G-SH (37). Уровень G-SH поддерживается ГР, восстанавливающей окисленный глутатион в реакции с НАДФН (11). Синтез G-SH требует участия небелковых низкомолекулярных SH-соединений, что в значительной степени определяет их антиоксидантные свойства (8). По мнению В.И.Кулинского (14) в настоящее время вопрос о влиянии заболеваний желчного пузыря на систему глутатиона крови практически не изучен.

Нами установлено, что у всех больных ОХ уже при поступлении в стационар содержание G-SH и активность ГР в эритроцитах были достоверно снижены. Так, содержание G-SH составляло 57,8% и 59,2%, а активность ГР-61,2% и 65,07% от уровня контроля в 1-й и 2-й группах соответственно (табл 2). Эти

данные согласуются с имеющимися в литературе сведениями о снижении уровня G-SH и активности его ферментов в эритроцитах больных ОХ (25). Предполагается, что снижение содержания G-SH и активности ГР в эритроцитах является реакцией на оксидативный стресс (14). Нами отмечено также и статистически достоверное снижение содержания свободных SH-групп в крови всех больных-до 87,6% и 86,5% от уровня контроля у больных 1-й и 2-й группы (табл 2).

Таблица 2

Динамика изменений содержания ГР, G-SH и SH-групп в гемолизатах крови больных острым холециститом (M±m)

Сроки определения	Показатели		
	ГР, мкмоль НАДФН/ мг Hb/мин	G-SH, мкмоль/мл	SH-группы, мкмоль/мл
Контроль	13,40±0,87	1275,60±12,1	56,80±1,12
1-я группа			
При поступлении	7,74±0,39*	780,25±24,50*	49,79±2,50*
2-3 сутки	6,12±0,18*	756,60±15,14*	50,85±1,47*
4-5 сутки	8,12±0,29* #	817,17±20,47* #	52,09±1,04*
2-я группа			
При поступлении	8,72±0,21*	755,00±10,79*	49,09±1,79*
Перед операцией	6,56±0,15* #	744,4±11,36*	51,9±1,36*
2-3 сутки после операции	5,52±0,44*	738,63±12,28*	49,75±2,36*
7-8 сутки после операции	7,90±0,56* #	883,00±13,46* #	49,03±1,46*

Примечание: \* – достоверно по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ ;

# – достоверно по сравнению с предыдущим измерением при  $p < 0,05$ .

У больных 1-й группы 2-3 сутки пребывания в стационаре характеризовались дальнейшим снижением активности ГР (до 45,6% по сравнению с контролем) и сохранением низкого содержания G-SH и SH-групп (60,04% и 91,0% от контрольного уровня). На 4-5 сутки пребывания в стационаре у больных этой группы наблюдалось повышение показателей активности ГР и содержания G-SH по сравнению с предыдущим измерением, которые, тем не менее, оставались достоверно ниже уровня контроля (табл 2).

У больных 2-й группы предоперационная подготовка в течение 2-3 суток сопровождалась дальнейшим падением активности ГР (до 48,9% от уровня контроля), а также сохранением сниженных уровней G-SH и SH-групп. В раннем послеоперационном периоде нами отмечено существенное снижение активности ГР и содержания G-SH как по сравнению с контролем (до 41,2% и 57,8 %), так и по сравнению с предоперационным уровнем. На 7-8 сутки после операции активность ГР и содержание G-SH повысились до 58,9% и 69,2% соответственно, оставаясь, тем не менее, достоверно ниже контрольного уровня. Содержание SH-групп в послеоперационном периоде оставалось сниженным и составляло 87,5% от уровня контроля (табл 2).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют, что у больных ОХ развивались выраженные изменения гомеостаза, проявляющиеся накоплением продуктов ПОЛ и снижением активности показателей АОС. Независимо от клинического течения заболевания и несмотря на проводимую консервативную терапию первые 2-3 сутки пребывания в стационаре характеризовались дальнейшим нарушением баланса ПОЛ-АОС

и усугублением окислительного стресса. Позднее, на 4-5 сутки пребывания в стационаре у больных с регрессирующим холециститом активность ПОЛ сохранялась, но, вместе с тем, уже наблюдалась активация как ферментативных, так и неферментативных механизмов антиоксидантной защиты. У больных с прогрессирующим холециститом оперативное вмешательство в значительной степени усугубляло нарушения окислительного гомеостаза, что проявлялось выраженным снижением активности ферментативного звена АОС-ГР, СОД и каталазы при сохранении сниженных уровней G-SH и SH-групп. Полученные данные подтверждают высказанное в литературе мнение о том, что оперативное вмешательство активирует окислительный стресс, снижая резервные возможности АОС, и усугубляет, таким образом, эндогенную интоксикацию (15, 33, 41). Выявленная активация изученных компонентов АОС и соответствующее снижение интенсивности ПОЛ отмечено нами лишь на 7-8 сутки после операции. Обращает на себя внимание тот факт, что изменения окислительного гомеостаза по своей длительности превышают длительность отклонений от нормы большинства гематологических и биохимических показателей. Представленные данные, на наш взгляд, свидетельствуют о целесообразности направленной медикаментозной коррекции окислительного гомеостаза у больных ОХ в ходе проводимого лечения. Следует отметить, что проведенный анализ исследованных показателей АОС выявил наличие общих тенденций в динамике изменений изученных компонентов этой системы в условиях острого воспаления желчного пузыря. Этот факт, на наш взгляд, позволяет судить об активности антиоксидантной системы, исследуя наиболее информативные параметры. Полученные нами данные свидетельствуют, что к числу последних у больных ОХ относятся СОД, G-SH и ГР.

#### Выводы

1. У больных ОХ наблюдаются выраженные изменения в системе ПОЛ-АОС, проявляющиеся накоплением в крови МДА-маркера перекисного окисления липидов, а также снижением активности ферментативных (ГР, СОД, каталаза) и неферментативных составляющих АОС (G-SH, SH-группы).
2. Независимо от клинического течения заболевания и несмотря на проводимую консервативную терапию в течение первых 2-3 суток пребывания в стационаре у больных ОХ наблюдается дальнейшее нарушение баланса ПОЛ-АОС: накопление продуктов ПОЛ и выраженная депрессия изученных показателей АОС, что свидетельствует о несостоятельности антиоксидантной защиты и развитии окислительного стресса.
3. Оперативное вмешательство оказывает влияние на равновесие ПОЛ-АОС, существенно снижая активность изученных ферментов АОС-ГР, СОД и каталазы. Указанные изменения, а также сниженное содержание G-SH и SH-групп сохраняются на протяжении всего послеоперационного периода.
4. Однонаправленность изменений различных звеньев АОС позволяет выделить наиболее информативные ее показатели, использование которых может быть целесообразно при мониторинге течения заболевания, оценке

эффективности антиоксидантной терапии. У больных ОХ наиболее информативными параметрами являются: активность ГР, СОД, содержание G-SH.

#### Литература

1. Арутюнян, А.В., Дубинина, Е.Е., Зыбина, Н.А. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма.-Спб.: ИКФ «Фолиант», 2000.-104с.
2. Борисов, А.Е., Земляной, В.П., Левин, Л.А. и др. Современное состояние проблемы лечения острого холецистита / Вестник хирургии.-2001.-т.180, №5.-с. 92-95.
3. Борисов, А.В., Федоров, А.В., Земляной, В.П. Ошибки, осложнения и летальность у больных с острыми хирургическими заболеваниями органов брюшной полости.-Спб.: Наука.-2000.-162с.
4. Владимиров, Ю.Ф., Арчаков, А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука,1972.-252с.
5. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и биологических системах / Соросовский образовательный журнал. – 2000.-Т.6, №12.-с.13-19.
6. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса / Вопр. мед. химии. – 2001. Т.47, №6. – с.561-581.
7. Ерюхин, И.А., Шашков, Б.Э. Эндотоксикоз в хирургической клинике.-СПб.: «Logos»,1995.-303 с.
8. Зборовская, И.А., Банникова, М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме. Клинические аспекты / Вестн. РАМН.-1995.-№6.-с.53-59.
9. Зенков, Н.К., Меньщикова, Е.Б., Шергин, С.М. Окислительный стресс. Диагностика, терапия, профилактика.-Новосибирск, 1993.-181с.
10. Кения, М.В., Лукаш, Л.И., Гуськов, Е.И. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / Успехи соврем. биол.-1993.-т.113, №4.-с.456-470.
11. Косовер, Н., Косовер, Э. Глутатион-дисульфидная система / Свободные радикалы в биологии.-М.:Мир, 1979.-с.65-95.
12. Кузикеев, М.А. Динамика ПОЛ-АОС у больных острым деструктивным холециститом после пролонгированной озонотерапии печени / Здоровье и болезнь.-2002.-№3.-с.74-79.
13. Кулинский, В.И., Колесниченко, Л.С. Биологическая роль глутатиона / Успехи современ. биол.-1990.-т.110, №1.-с.20-33.
14. Кулинский, В.И., Леонова, З.А., Козлов, Н.М. Система глутатиона в эритроцитах и плазме крови при хронических заболеваниях желчного пузыря / Рос. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.-2006.-№3.-с.40-44.
15. Лахин, Р.Е. Предоперационная подготовка больных с печеночной недостаточностью / 9 Всерос.науч. конф. «Актуальные вопросы анестезиологии и реаниматологии»: Материалы конф.-СПб., 1998.-с.159-160.
16. Лейшнер, У. Практическое руководство по заболеваниям желчных путей.-М.: Геотар-Мед., 2001.-264с.

- 17.Леонович, С.И., Протасевич, А.И., Есепкин, А.В. и др. Комплексное лечение острого калькулезного холецистита / Рецепт.-2002.-№5.-с.51-55.
- 18.Макшанов, И.Я., Цилиндзь, И.Т. Подготовка больных желчнокаменной болезнью к экстренным и срочным операциям в условиях повышенного риска /Анналы хир. гепатол.-2002.-№1.-с.129-130.
- 19.Мамонтова, Н.С., Белобородова, Э.Н., Тюкалова, Л.Н. Активность каталазы при хроническом алкоголизме / Клиническая и лабораторная диагностика.-1994.-№1.-с.27-28.
- 20.Методы биохимических исследований / Под ред М.И.Прохоровой.-Л.: Изд-во Ленинградского ун-та,1982.-272 с.
- 21.Митряков, Н.Ф. Печеночная недостаточность – основная причина летальных исходов при остром холецистите / Вопросы неотложной и специальной хирургии.-Тюмень, 1970,-с.126-129.
- 22.Новочадов, В.А., Писарев, В.Б. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология.-Волгоград: изд-во ВОЛГМУ, 2004.-240с.
- 23.Пасечник, И.Н. Механизмы повреждающего действия активированных форм кислорода на биологические структуры у больных в критических состояниях / Вестн. интенсивной терапии.-2001.-№4.-с.3-9.
- 24.Поберезкина, Н.Б., Осинская, Л.Ф. Биологическая роль супероксиддисмутазы / Укр. біохімі. журн. – 1989.-т.61, №2.-с.14-22.
- 25.Помелов, В.С., Жумадилов, Ж.Ш., Короткина, Р.Н. Динамика уровня глутатиона и активности ферментов обмена глутатиона в эритроцитах больных острым холециститом / Сов. мед.-1991.-№8.-с.27-30.
- 26.Прудков, М.И., Столин, А.В., Кармацких, А.Ю. Экспресс-диагностика гнойно-деструктивных форм острого калькулезного холецистита // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.-2005.-№5.-с.-32-34.
- 27.Тотиков, В.З., Слепушкин, В.Д., Кибизова, А.Э. Хирургическая тактика при деструктивном холецистите у больных пожилого и старческого возраста / Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.-2005.-№6.-с.-20-23.
- 28.Феофилов, Г.Л., Воробьев, И.В., Семенюк, А.В. и др. Антиоксиданты в комплексном лечении острого холецистита у больных пожилого и старческого возраста / Вестник хирургии.-1992.-№1.-с.16-21.
- 29.Фищенко, А.Л., Бондарчук, Г.В. Анализ летальности после операций на желчевыводящих путях / Клини. хирургия.-1992.-№9-10.-с.67-68.
- 30.Черданцев, Д.В., Винник, Ю.С., Каспаров, Э.В. и др. Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите.-Красноярск, 2002.-148с.
- 31.Чумаков, В.Н., Осинская, Л.Ф. Количественный метод определения активности цинк-медь-зависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале / Вопр. мед.химии.-1977. Т.27, №5.-с.712-715.
- 32.Asakava, T., Matsushita, S. Colorus condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides / Lipids.-1980.-Vol.5, p.N3.-pp.137-140.
- 33.Bukan, M. H., Bukan, N. Effects of open and laparoscopic cholecystectomy on oxidative stress/ Tohoku J. Exp. Med.-2004.-Vol.202 (1).-P.51-56.

34. Calberg, I., Mannervik, B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver / *J. Biol. Chem.*-1975.-Vol. 250, N14.-P. 5475-5480.
35. Fagan, S.P., Awad, S.S., Rahwan, K., Hira, K. Prognostic factors for development of gangrenous cholecystitis / *Am. J. Surg.*-2003.-Vol.186(5).-P.481-485.
36. Girgin, G., Gedik, E., Tacyildiz, I.H. Factors affecting morbidity and mortality in gangrenous cholecystitis / *Acta Chir. Belg.*-2006.-Vol.106 (5). – P. 545-549.
37. Khan, M., Sekhon, B., Jatana et al. Administration of N-acetylcysteine after focal cerebral ischemia protects brain and reduced inflammation in a rat model of experimental stroke / *J. Neurosci. Res.* 2004. Vol.76. P. 519-527.
38. Loidl-Stahlhofen, A., Hanneman, K., Spiteller, G. Detection of alpha-hydroxyaldehydic compounds as pentafluorobenzyloxide in bovine liver / *Chem. Phys. Lipids.*-1995.-Aug.1.-77(1).-P.113-117.
39. Nishikimi, M.N., Appaji, R., Vagi, K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen / *Biochim. Biophys. Research. Commun.*-1971.-Vol. 46.-N2.-P.849-854.
40. Sedlak, J., Lindsay, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / *Anal. Biochem.*-1968.-vol.25, N1.-P.192-205.
41. Stipancic, I., Zarkovic, N., Servis, D. Oxidative stress markers after laparoscopic and open cholecystectomy / *J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A.*-2005.-Vol.15 (4).-P.347-352.