

Свободнорадикальное окисление липидов в послеоперационном периоде

В.В. Кузьмин, О.Л. Андреева, В.М. Егоров, А.В. Кузьмина

Уральская государственная медицинская академия, кафедра анестезиологии и реаниматологии ФПК и ПП

Процессы свободнорадикального окисления (СРО) липидов принимают участие в патогенезе многих болезней [9,11,16], являясь частью общего адаптационного механизма, направленного на поддержание клеточного гомеостаза. Свободные кислородные радикалы способны вызывать необратимое повреждение многих биохимических сред, включая нуклеиновые кислоты, белки, свободные аминокислоты, липиды, углеводы и макромолекулы соединительной ткани [1,5,6,7]. Основные механизмы, ответственные за активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) установлены [2,6]. Увеличение свободных кислородных радикалов может сопровождаться активацией полиморфноядерных лейкоцитов и продукцией лейкотриенов, что в свою очередь вызывает повреждение ткани и ускоряет воспалительные реакции в различных органах и тканях человеческого тела [1,5,8,18]. Недавние исследования в эксперименте и клинике показали, что даже небольшая операция может вызвать активацию процессов ПОЛ [10,14,15].

Избыточное накопление в крови продуктов липидной природы приводит к нарушению жизненно важных функций клетки, разобщает и подавляет окислительное фосфорилирование митохондрий, нарушает ионный баланс клетки, активизирует лизосомальные ферменты, что нарушает митотические процессы в клетках и может способствовать их гибели [8]. Токсическое воздействие избыточного количества продуктов ПОЛ клинически проявляется угнетением синтеза белков и иммунного статуса организма, нарушением деятельности желез внутренней секреции, развитием бронхо-обструктивного синдрома, токсического гепатита, миокардита и нефрита [1]. Чрезмерной активности СРО противостоят антиоксидантные системы (АОС) организма, такие как глутатион, аскорбиновая кислота и α -токоферол, а также ферментные системы (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза и др.) [3,5,6,7].

Целью исследования явилось изучение активности процессов СРО липидов в крови у пациентов с тяжелой степенью критической ишемии нижней конечности, подвергшихся операции ампутации конечности.

Материалы и методы

За период 2003–2004 гг. проведено проспективное исследование у 49 пациентов (31 мужчин, 18 женщин) в возрасте 58–76 лет после операции ампутации на уровне бедра по поводу атеросклеротической гангрены нижней конечности в больницах города Екатеринбург (МУ ГКБ №40, МУ ГКБ №7, Дорожная больница). Операции в исследуемых группах проводились под региональной анестезией (спинномозговая или эпидуральная анестезия). Пациенты проспективного исследования были разделены на три группы по результатам клинического исхода послеоперационного периода: группа I – выздоровевшие пациенты (36 человек), группа II – пациенты с гнойно-воспалительными осложнениями в послеоперационной ране (7 человек), группа III – умершие пациенты (6 человек). Группа сравнения 10 пациентов в возрасте 61–82 года без воспалительных и системных заболеваний.

Из числа интегральных показателей оценки активности ПОЛ, позволяющих быстро заметить основные тенденции изменения ПОЛ, нами были выбраны малоновый диальдегид (МДА), супероксиддисмутаза (СОД) и общая антиоксидантная активность (АОА). Массовую концентрацию продуктов ПОЛ и антиоксидантной системы определяли спектрофотометрически (спектрофотометр СФ-46, ЛОМО, Россия). Интенсивность ПОЛ оценивали по концентрации одного из конечных и наиболее токсичных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида в плазме с помощью тиобарбитуровой кислоты. Антиоксидантная система оценивалась по активности супероксиддисмутазы в гемолизированной крови (по реакции торможения супероксиддисмутазой гемолизата образования

формазона) и общей антиоксидантной активности в сыворотке крови (по системе фосфолипидов желтка). Забор пробы крови из кубитальной вены проводили до операции, на 1-2 и 4-5 сутки после операции.

Статистические результаты представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка ($M \pm S$). Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики с применением критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Исследование основных продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в контрольной группе выявило следующее: массовая концентрация МДА составила $0,113 \pm 0,062$ моль/л, СОД $309,6 \pm 52,1$ уед./гНв*мин, АОА $50,3 \pm 12,5$ %. Сравнительная оценка состояния ПОЛ у пациентов до операции с группой контроля показала статистически достоверное увеличение концентрации МДА до операции во всех трех группах (таблица 1): в первой и во второй группе в 1,8 раза ($p < 0,05$), в третьей группе в 2,9 раза ($p < 0,01$). При исследовании концентрации ферментов АОС до операции в трех группах в сравнении с контролем (таблица 2 и таблица 3) обнаружено следующее: незначительное уменьшение концентрации СОД гемолизата соответственно на 7%, 4% и 2% ($p > 0,05$), и значительное уменьшение АОА сыворотки соответственно на 34%, 35% и 30% ($p < 0,05$). Межгрупповое сравнение МДА до операции выявило увеличение концентрации в 1,6 раза ($p < 0,05$) в группе умерших по сравнению с группой выживших больных. В исследуемых группах пациентов с гангреной концентрация ферментов АОС до операции достоверно не отличалась.

Мониторинг концентрации конечного продукта ПОЛ до и после операции не выявил достоверных изменений на этапах исследования. Однако отмечена тенденция в увеличении концентрации МДА на 1-2 сутки в исследуемых группах (таблица 1) на 14%, 18% и 1% ($p > 0,05$) в сравнении с исходным уровнем, и уменьшение его концентрации на 4-5 сутки в сравнении с уровнем МДА на 1-2 сутки в первой и второй группах на 7% и 8% ($p > 0,05$), а также дальнейшее увеличение концентрации МДА на 5% в третьей группе ($p > 0,05$). Среднее значение СОД (таблица 2) уменьшалось на 1-2 сутки в исследуемых группах на 4%, 11% и 17% в сравнении с дооперационным уровнем ($p > 0,05$), и увеличивалось на 9%, 7% и 9% на 4-5 сутки в сравнении с уровнем СОД на 1-2 сутки после операции ($p > 0,05$). Среднее значение АОА (таблица 3) также уменьшалось на 1-2 сутки в первой и во второй группе на 7% и 12% в сравнении с дооперационным уровнем

Таблица 1. Периоперативный уровень МДА плазмы, моль/л ($M \pm S$)

	Группа I (n=36)	Группа II (n=7)	Группа III (n=6)
до операции	$0,205 \pm 0,097$	$0,213 \pm 0,106$	$0,328 \pm 0,132^*$
1-2 сутки после операции	$0,238 \pm 0,081$	$0,259 \pm 0,118$	$0,333 \pm 0,152$
4-5 сутки после операции	$0,221 \pm 0,118$	$0,237 \pm 0,125$	$0,351 \pm 0,141$

Примечание. * ($p < 0,05$) между группой I и группой III

Таблица 2. Периоперативный уровень СОД гемолизата, у.ед./гНв*мин ($M \pm S$)

	Группа I (n=36)	Группа II (n=7)	Группа III (n=6)
до операции	$289,3 \pm 61,9$	$296,8 \pm 70,1$	$304,4 \pm 61,4$
1-2 сутки после операции	$277,5 \pm 67,2$	$263,7 \pm 65,3$	$253,2 \pm 57,8$
4-5 сутки после операции	$303,8 \pm 70,8$	$285,4 \pm 68,8$	$272,7 \pm 72,3$

Таблица 3. Периоперативный уровень АОА сыворотки, % ($M \pm S$)

	Группа I (n=36)	Группа II (n=7)	Группа III (n=6)
до операции	$33,5 \pm 14,3$	$32,8 \pm 15,1$	$35,2 \pm 16,2$
1-2 сутки после операции	$30,6 \pm 17,8$	$28,6 \pm 16,7$	$38,3 \pm 13,6$
4-5 сутки после операции	$43,8 \pm 18,3^*$	$37,1 \pm 17,3$	$34,0 \pm 15,4$

Примечание. * ($p < 0,05$) между группой I и группой III, и между уровнем АОА на 1-2 сутки и 4-5 сутки

($p > 0,05$), и увеличивалось соответственно на 30% ($p < 0,05$) и 23% ($p > 0,05$) на 4-5 сутки в сравнении с уровнем АОА на 1-2 сутки после операции. Среднее значение АОА было достоверно выше в группе выживших пациентов на 22% ($p < 0,05$) по сравнению с умершими больными, при этом достоверно не отличалось от среднего значения АОА группы контроля.

Обсуждение полученных результатов

Проведенное исследование выявило активацию процессов СРО липидов у пациентов с тяжелым атеросклеротическим поражением сосудов нижних конечностей, что сопровождалось значительным увеличением концентрации конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида. Происходящая активация ПОЛ обусловлена как системным проявлением атеросклероза с накоплением в крови избыточного количества продуктов ПОЛ, связанного с увеличением количества ненасыщенных жирных кислот и уменьшением насыщенных жирных

кислот [3], так и ишемическими нарушениями при атеросклеротическом поражении сосудов, что сопровождается разбалансировкой функционирования систем генерирования и детоксикации продуктов ПОЛ [8]. При этом активируются ферментные системы, продуцирующие супероксидные радикалы и гидроперекиси [1,16]. Одновременно с активацией процессов оксидации у обследуемых больных с критической ишемией обнаружено снижение показателей активности антиоксидантных ферментов, таких как АОА, ответственных за инактивацию продуктов ПОЛ. Наблюдаемое уменьшение активности ферментов АОС обусловлено истощением резервной мощности АОС для полной компенсации усилившегося ПОЛ липидов вследствие длительности и тяжести атеросклеротического поражения сосудов нижних конечностей. Активность супероксиддисмутазы в эритроцитах крови у обследуемых больных не была достоверно снижена, подобные результаты по активности СОД при тяжелом атеросклерозе были получены и другими исследователями [3,7,8]. Происходящие изменения процессов СРО липидов у данной категории больных могут оказывать отрицательное воздействие и способствовать развитию сердечной недостаточности и аритмий [3,7], нарушению коронарного и мозгового кровотока [11,15], увеличивают риск тромбозов и тромбоэмболий за счет повреждения клеток интимы сосудов, ингибирования синтеза простагландина в артериальной стенке и увеличения агрегации тромбоцитов [15], а также могут сопровождаться увеличением гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде [10].

В процессе ПОЛ, кроме первичных продуктов, наблюдается накопление большого количества вторичных продуктов окисления, которые являются мутагенами и обладают выраженной цитотоксичностью. Наиболее важными из них являются ненасыщенные альдегиды, малоновый диальдегид и продукты его взаимодействия с аминсодержащими соединениями - флюоресцирующие шиффовы основания [1,5,8]. Результаты мониторинга процессов ПОЛ и активности АОС до операции и в послеоперационном периоде выявили тенденцию к увеличению МДА на 1-2 сутки после операции с последующим возвращением к дооперационному уровню на 4-5 сутки. Происходящие изменения в системе ПОЛ обусловлены хирургической агрессией с повреждением ткани и активацией специализированных ферментов - циклооксигеназы и липоксигеназы, катализирующих перекисное окисление арахидоната и других полиненасыщенных жирных кислот с образованием циклических эндоперекисей и алифатических гидроперекисей соответственно [3,6].

Динамика изменения активности ферментов АОС показала тенденцию к уменьшению средних значений АОА и СОД на 1-2 сутки и увеличению этих значений на 4-5 сутки, при этом концентрация ферментов АОА превысила дооперационный уровень и достигла уровня активности ферментов у больных контрольной группы. Происходящие изменения концентрации и активности ферментов АОС связаны с потреблением их в процессе стабилизации окислительного равновесия. Полученные данные несколько отличаются от данных других исследователей [15], которые наблюдали увеличение активности СОД при операции холецистэктомии на 1-2 сутки с возвращением к исходному уровню на 6 день. Отличие связано с тем, что в нашем исследовании у пациентов наблюдалось длительное и значительное напряжение системы СРО липидов, с активацией процессов ПОЛ и уменьшением антиоксидантной буферной емкости.

При межгрупповом сравнении обнаружено накопление активных промежуточных продуктов СРО, что было связано с кинетикой накопления симптомов и тяжестью патологического процесса. У выживших пациентов отмечена сбалансированность систем ПОЛ и АОС, что сопровождалось возвращением окислительного равновесия к минимально стабильному дооперационному уровню. В отличие от выживших больных в группе умерших больных сохранялся высокий уровень процессов ПОЛ с тенденцией к уменьшению активности ферментов АОС. Это могло способствовать неблагоприятному исходу заболевания. Данные многочисленных экспериментальных работ и обзоров, подтверждают ключевую роль ПОЛ в патогенезе многих болезней [1,5,8,12,16]. Активация процессов ПОЛ ведет к нарушению структуры мембран, липидного обмена, оказывает токсическое действие на ткани, способствует усилению лизиса, окислению сульфгидрильных групп белков и приводит в итоге к развитию структурных изменений [4,6,12].

Заключение

Тяжелое атеросклеротическое поражение сосудов нижних конечностей сопровождается нарушением равновесия между процессами свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной системой, с активацией процессов ПОЛ и снижением количества и активности ферментов АОС. Операционная травма сопровождается дальнейшим напряжением системы СРО липидов. Увеличение концентрации продуктов ПОЛ при уменьшении или низком уровне активности ферментов АОС позволяет прогнозировать неблагоприятное течение послеоперационного периода и исхода заболевания.

Литература

1. Барабой В.А. Роль перекисного окисления в механизме стресса // Физиол. журнал. 1989, - Том 35, - №5, - С. 85-97.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 259 с.
3. Давиденкова Е.Ф., Шафран М.Г. Атеросклероз и процесс перекисного окисления липидов // Вестн. АМН СССР. - 1989, - №3, - С. 10-18.
4. Динамика изменений активности перекисного окисления липидов и интенсивности тканевого дыхания при заживлении асептических и инфицированных ран в эксперименте // Ю. П. Таран, А. В. Николаев, Л. А. Мамедов, С. В. Елисеева, В. В. Захаров. Бюл. эксп. биол. и мед. - 1988, - Том 105, - №5. С. 552-554.
5. Жданов Г.Г., Нечаев В.Н., Нодель М.Л. Свободно-радикальные процессы, гипоксия и применение антиоксидантов в реаниматологии // Анест. и реаниматол. - 1989. - №4. - С. 63-68.
6. Коган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблемы анализа продуктов перекисного окисления липидов/ Биофизика (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР), М., 1986, Том 18, - 131 с.
7. Коновалова Г.Г., Ланкин В.З., Бескровнова Н.Н. Роль ингибиторов свободнорадикального перекисного окисления липидов в защите миокарда от ишемического повреждения // Архив патологии, - 1989, - Том 51, - № 6, - С. 19-24.
8. Ланкин В.З., Вихерт А.М. Перекисное окисление липидов в этиологии и патогенезе атеросклероза // Архив патологии, - 1989, - Том 51-№1, - С. 80-85.
9. Меерсон Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы // Физиология адаптационных процессов.- М., 1986.- С. 521-631.
10. Михельсон В.А., Клевко В.А., Мухин В.Х., Азизова О.А. Состояние реакции перекисного окисления липидов и а-токоферола у детей в ближайшем послеоперационном периоде // Вестн. АМН СССР. - 1988, - №9, - С. 65-61.
11. Перекисное окисление липидов при эмоциональном напряжении и невротических расстройствах // Ю. А. Александровский, М. В. Пожуровский, Г. Г. Незнамов, С. Б. Середенин, Е. А. Красова. Журн. невропатол. и психиатр. - 1988, - №11. - С.95-101.
12. Роль активации перекисного окисления липидов в патогенезе экспериментального перитонита // С.Г. Конюхова, А.Ю. Дубикайтис, Л.В. Шабуневич, В.И. Страшное, М.В. Белоцерковский. - Бюл. эксп. биол. и мед. - 1989, - №5, - С. 557-559.
13. Сутковой Д.А. Роль активации перекисного окисления липидов тканей в реакции организма на ноцицептивные стимулы // Журн. невропатол. и психиатр. - 1991, - №12. - С. 43-46.
14. Anup R., Aparna V., Pulimood A., Balasubramanian K.A. // Surgical stress and the small intestine: role of oxygen free radicals. Surgery, - 1999, - V. 125(5). - P. 560-569.
15. Dzieciuchowicz L., Chęcinski P., Krauss H. // Heparin reduces oxidative stress in the postoperative period. Med. Sci. Monit. 2002. - V.8. - P. 657-660.
16. Halliwell B.: The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. Haemostasis, 1993. 23 (Suppl. 1). P. 118-126.
17. Torrielli M.V., Dianzani M.U. Free radicals in inflammatory disease // Free radicals in molecular biology, aging and disease. - New York. 1984. - P. 355-379.
18. Oxygen free radicals are required for ischemia-induced leukotriene B₄ synthesis and diapedesis. / Goldman G., Welbourn R., Klausner J.M. et al. - Surgery, 1992, - V. 111. - P. 287-293.