

УДК 617-51-008.9

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И РАЗВИТИЯ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

© 2012 г. Е.А. Лебедева

Ростовский государственный медицинский университет,
пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов н/Д, 344022,
okt@rostgmu.ru

Rostov State Medical University,
Nakhichevanskiy Lane, 29, Rostov-on-Don, 34402.
okt@rostgmu.ru

Цель исследования – выявление особенностей адаптационных реакций организма при тяжелой сочетанной черепно-мозговой травме. Проведено исследование 66 пациентов с тяжелой сочетанной черепно-мозговой травмой. Установлено, что снижение интенсивности свободнорадикального окисления происходило на фоне повышения концентрации продуктов перекисного окисления липидов, дискоординации в активности супероксиддисмутазы и каталазы. Множественные повреждения, усугубленные избыточной перекисной окисляющей, приводят к дополнительным нарушениям структуры биомембраны с пространственной дезориентацией их белково-липидных комплексов.

Ключевые слова: сочетанная черепно-мозговая травма, перекисное окисление липидов, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная защита, модификация белка.

Research objective – revealing of features of adaptable reactions of an organism at heavy the concomitant brain injury. Research of 66 patients with heavy the concomitant brain injury is conducted. It is established that decrease in intensity free-radical oxidations occurred against increase of concentration of products peroxidations of lipids, discoordination in activity superoxyddismutazes and catalases. The plural damages aggravated superfluous peroxidation, lead to additional infringements of structure of a biomembrane with their spatial disorientation protein-lipidis complexes.

Keywords: concomitant brain injury, peroxidation of lipids, free-radical oxidation, antioxidants protection, protein updating.

В соответствии с теорией адаптации функциональных систем, разработанной Н. Selye в 1973 г. [1] и П.К. Анохиным в 1975 г. [2], в ответ на экстремальные воздействия развивается запрограммированная генетически цепь типовых постагрессивных адаптационных реакций (системные – на уровне организма, местные – на уровне органа, ткани). Известно, что адаптационные реакции формируются и на сочетанное повреждение в остром периоде течения травматической болезни [3]. Данные реакции приводят к относительной адаптации организма к новым условиям на более низком уровне жизнеспособности организма [4]. При неблагоприятном течении болезни катаболическая фаза системной постагрессивной реакции доминирует и угнетает анаболическую, тем самым истощая системы защиты. При таком варианте течения болезни или патологического процесса наблюдается прогрессирующая декомпенсация одной или сразу нескольких систем жизнеобеспечения (синдром полиорганной недостаточности), на фоне которой высок процент наступления летального исхода [5]. Так, по данным А.И. Верховского, И.В. Куршаковой [6], в период острой реакции на травму летальность составляет от 25 до 50 %. Такие постагрессивные реакции, активизирующиеся в результате повреждения, связаны с

эндотоксикозом, окислительным стрессом, выбросом в кровоток провоспалительных цитокинов, воспалением, апоптозом [5, 6].

Целью настоящего исследования являлось выявление особенностей течения оксидативного стресса и адаптационных реакций организма при тяжелой сочетанной черепно-мозговой травме (ЧМТ) в первые сутки после травмы. Проведено обсервационное когортное исследование 66 пациентов с тяжелой сочетанной ЧМТ в первые сутки после ее получения. Возраст пациентов был от 18 до 65 лет. Критерием включения в исследование пациентов было наличие тяжелого повреждения головного мозга с количеством баллов по шкале ком Глазго (ШКГ) не менее 12 и тяжестью повреждения по шкале PTS (Polytraumaschlus sel, Ганновер, ФРГ, 1982) не менее 10 баллов. Критерием исключения из исследования служили тяжелые хронические патологические процессы в стадии декомпенсации, выявляемые в период обследования пациента при поступлении или в процессе сбора анамнеза. Изучались показатели свободнорадикального окисления (СРО), перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантной защиты (АОЗ), реакции модификации белков. Уровень СРО в плазме крови определялся методом хемилюминесцентного анализа [7]

путем измерения интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) по 5 основным параметрам: S_m (спонтанная светимость биопробы), h (высота быстрой вспышки), H (высота медленной вспышки), S_m (светосумма медленной вспышки), $tg\alpha$ (тангенс угла наклона левого плеча медленной вспышки). Интенсивность процессов ПОЛ в плазме крови и в эритроцитах определяли по содержанию диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) [8] и шиффовых оснований (ШО) [9]. Состояние АОЗ оценивали по активности каталазы (КА) в плазме и эритроцитах [10], активности супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах и супероксидустраняющей активности (СУА) плазмы [11]. Для оценки стабильности и структурно-функционального состояния мембран эритроцитов крови проведено определение внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ) и суммарной пероксидазной активности (СПА) в плазме крови [12, 13]. Окислительную модификацию белков эритроцитов определяли по изменению флуоресценции аминокислотных остатков [14] по следующим показателям: *obsh flu* – общая флуоресценция, *trip flu* – триптофановая флуоресценция, *golub flu* – голубая флуоресценция и *shel flu* – щелочная флуоресценция.

В зависимости от исхода травмы все пациенты были разделены на 3 группы: 1-я группа – умершие до 7 сут (16 чел.), 2-я группа – умершие в срок от 7 до 28 сут (10 чел.) и 3-я группа – выжившие в течение 28 сут наблюдения (40 чел.). В 3-ю группу наблюдения вошли как все выжившие, так и пациенты, умершие после 28 сут наблюдения. В качестве нормы были приняты зна-

чения от 14 здоровых добровольцев, сопоставимых с исследуемыми пациентами по полу и возрасту.

Статистическая обработка проводилась пакетом прикладных программ Statistica 6 (StatSoft Inc., США). Анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения проводился с применением критерия Шапиро–Уилка. Описательная статистика количественных признаков представлена в виде центральной тенденции – медианы (Me) и дисперсии – интерквартильного размаха (25 и 75 процентиля), представленного в тексте как Me(LQ;UQ). Сравнение переменных в двух группах производилось непараметрическими методами статистического анализа с применением критерия Вилкоксона для зависимых переменных и критерия Манна–Уитни – для независимых. Сравнение независимых переменных в трех группах осуществлялось непараметрическим методом ANOVA с применением медианного теста χ^2 . Выпадающие значения («выбросы») не исключались из анализа. Нулевая гипотеза отклонялась, если уровень статистической значимости (p) был равным 0,05 или менее.

В процессе анализа полученных данных установлено, что, несмотря на сложившееся мнение о нарастающей оксидативном стрессе у пострадавших с тяжелой сочетанной ЧМТ, периода повышения интенсивности СРО, определяемого методом ХЛ, сразу после травмы нами не зафиксировано. Напротив, у всех пациентов, поступивших в отделение анестезиологии и реанимации в первые сутки после травмы, отмечено снижение уровня СРО (табл. 1).

Таблица 1

Показатели ХЛ у пациентов рассматриваемых групп при поступлении

Показатель ХЛ, от.ед.	Показатель здоровых добровольцев (n=14)	Группы сравнения (p – значимость различий по сравнению с нормой)		
		1-я (n=16)	2-я (n=10)	3-я (n=40)
Sm	3,59 (2,82;4,91)	2,57 (2,41;2,96)	2,58 (2,48;3,05)	2,75 (2,49;3,01)
		p=0,002	p=0,001	p<0,001
h	74,12 (72,34;75,42)	61,38 (57,24;62,41)	61,56 (59,48;62,45)	62,47 (60,47;65,40)
		p<0,001	p<0,001	p<0,001
H	75,88 (74,52;80,32)	51,68 (49,75;58,28)	52,04 (48,27;54,68)	53,17 (51,47;62,12)
		p<0,001	p<0,001	p<0,001
Sm	454,21 (451,0;463,8)	306,2 (299,2;323,3)	318,1 (296,4;356,5)	351,0 (329,4;370,3)
		p<0,001	p<0,001	p<0,001
tg α	65,05 (64,56;65,79)	45,68 (42,37;52,23)	47,68 (39,67;49,68)	51,76 (44,34;53,79)
		p<0,001	p<0,001	p<0,001

У пострадавших 1-й группы значения исследуемых показателей ХЛ статистически значимо ниже значений, полученных от двух других групп сравнения. Согласно проведенному анализу в данной группе наблюдения статистически значимо выше была кровопотеря ($p=0,02$) и тяжесть полученной травмы ($p=0,02$). Возможно, что в указанной группе данные факторы могли привести к высоким степеням гипоксии и эндотоксикоза, что способствовало снижению интенсивности метаболических процессов, быстрому истощению энергетических запасов и ранней декомпенсации в функционировании организма.

Снижение интенсивности ХЛ у пациентов с тяжелой сочетанной ЧМТ происходило на фоне статистически значимого повышения содержания продуктов ПОЛ. Во всех трех группах наблюдения в первые су-

тки посттравматического периода регистрировалась активация образования продуктов ПОЛ как в эритроцитах, так и в плазме крови (табл. 2).

Наибольший рост по сравнению с другими продуктами ПОЛ отмечен у ДК в эритроцитах (превышение нормы на 156 % в 1-й группе, на 125 – во 2-й и на 120 – в 3-й группе при $p<0,001$) и плазме (превышение нормы на 93,8 % в 1-й группе, на 85,74 – во 2-й и на 85,19 – в 3-й группе при $p<0,001$). Это вполне объяснимо. Данный продукт является первичным в цепной реакции ПОЛ, а для продукции последующих веществ необходимо время.

При статистическом анализе показателей ПОЛ между тремя группами пациентов выявилась статистически значимая разница только для ДК эритроцитов ($p=0,01$). Наибольшее значение первичного про-

дукта ПОЛ определялось в 1-й группе, и оно превышало значение во 2-й группе на 12,03 % ($p=0,05$) и на 13,92 в 3-й группе ($p=0,05$).

Разнонаправленность изменений между интенсивностью ХЛ и образованием продуктов ПОЛ в первые

сутки посттравматического периода свидетельствует о том, что, несмотря на низкую скорость протекания свободнорадикальных процессов (СРП), последние идут и заканчиваются образованием повышенного количества токсических метаболитов.

Таблица 2

Показатели ПОЛ в эритроцитах и плазме крови у пациентов рассматриваемых групп при поступлении

Показатель	Показатели здоровых добровольцев (n=14)	Группы сравнения (p – значимость различий по сравнению с нормой)		
		1-я (n=16)	2-я (n=10)	3-я (n=40)
ДК эр., нмоль/мг Нб	6,17 (4,95;6,56)	15,80 (14,60;16,80) $p<0,001$	13,90 (12,80;16,30) $p<0,001$	13,60 (12,55;14,95) $p<0,001$
ДК пл., нмоль/мл	12,69 (8,98;15,86)	24,60 (23,15;26,60) $p<0,001$	23,57 (21,80;25,40) $p<0,001$	23,50 (21,55;24,75) $p<0,001$
МДА эр., нмоль/мг Нб	1,00 (0,92;1,12)	1,18 (1,04;1,48) $p=0,06$	1,14 (0,99;1,54) $p=0,008$	1,25 (1,09;1,39) $p<0,001$
МДА пл., нмоль/мл	21,17 (19,86;21,55)	24,14 (21,51;27,33) $p=0,001$	23,67 (23,48;25,78) $p=0,003$	24,06 (23,08;25,55) $p<0,001$
ШО эр., ед.фл./мг Нб	9,39 (8,76;10,24)	12,23 (11,26;12,80) $p<0,001$	11,48 (10,45;12,47) $p<0,001$	11,80 (10,95;12,64) $p<0,001$
ШО пл., ед.фл./мл	16,65 (16,46;17,18)	18,05 (16,85;21,49) $p=0,001$	19,54 (18,70;21,60) $p=0,017$	18,55 (17,48;21,29) $p<0,001$

На фоне снижения интенсивности СРП, повышенной выработки продуктов ПОЛ происходит понижение активности АОЗ (табл. 3). Согласно полученным результатам исследования, во всех группах наблюдения в первые сутки после травмы происходит резкое снижение активности КА в эритроцитах (в среднем на 35 % по сравнению с нормой, $p<0,001$).

Однако активность другого внутриклеточного антиоксидантного фермента – СОД несколько повышается в первые сутки наблюдения. Так, в 1-й группе ее рост (по сравнению с нормой) составил 13,32 % ($p=0,6$), во 2-й – 7,99 ($p=0,5$) и в 3-й – 8,7 % ($p=0,9$). Мы видим, что данный рост статистически не значим, но тенденция к повышению присутствует.

Таблица 3

Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах и плазме крови и показателей структурно-функционального состояния мембран эритроцитов у пациентов рассматриваемых групп при поступлении

Показатель	Показатели здоровых добровольцев (n=14)	Группы сравнения (p – значимость различий по сравнению с нормой)		
		1-я (n=16)	2-я (n=10)	3-я (n=40)
КА эр., нмоль/мг Нб	38,03 (37,40;38,61)	22,60 (19,90;27,00) $p<0,001$	22,50 (21,50;30,00) $p<0,001$	22,53 (18,77;24,79) $p<0,001$
КА пл., нмоль/мл	14,91 (14,29;16,03)	4,62 (3,41;9,18) $p<0,001$	4,80 (4,70;6,00) $p<0,001$	4,56 (3,35;5,64) $p<0,001$
СОД эр., у.е./мин.мг Нб	3,57 (2,92;3,86)	4,04 (2,33;4,76) $p=0,6$	3,85 (3,20;4,10) $p=0,55$	3,88 (2,38;4,50) $p=0,97$
СУА пл., у.е./мин.мл	0,62 (0,54;0,74)	2,76 (2,55;3,03) $p<0,001$	2,90 (2,20;3,50) $p<0,001$	2,70 (2,27;3,57) $p<0,001$
ВЭГ пл., г/л	14,08 (12,57;16,06)	24,70 (22,49;25,58) $p<0,001$	24,56 (22,40;25,06) $p<0,001$	24,83 (22,57;26,75) $p<0,001$
СПА пл., о.е.п./мл	1,74 (1,63;1,84)	18,65 (15,30;19,69) $p=0,05$	17,40 (15,60;17,50) $p=0,043$	16,80 (14,87;19,22) $p=0,054$

Говоря иными словами, четко проявляется дискоординация в активности двух синергистов в клетках (СОД и КА), которая, согласно данным О.Ю. Жуковой [15], возможна при избыточном образовании супероксидного радикала, оказывающего ингибирующее действие на КА. В норме активность КА в плазме определяется на низком уровне. Повышение ее активности в плазме крови наблюдается только при нарушении проницаемости клеточных мембран. При этом обеспечивается выход данного фермента в кровь. Массивное повреждение тканей при сочетанной травме привело к статистически достоверному повышению активности данного фермента в плазме крови во

всех исследуемых группах. Наибольшая активность данного фермента обнаружена у пациентов 1-й группы (разница с нормой составила 25,05 % при $p=0,05$). Во 2 и 3-й группах данный показатель превышал норму в меньшей степени (на 16,7 % при $p=0,04$ и на 12,68 при $p=0,05$ соответственно).

Значения интегрального показателя СУА в первые сутки посттравматического периода было высоким во всех трех группах наблюдения по сравнению с нормой ($p<0,001$). Так, значение данного показателя в 1-й группе превышало значение здоровых добровольцев в 4,45 раза, во 2-й – в 4,68 и в 3-й – в 4,35 раза ($p<0,001$). Увеличение СУА в исследуемых группах

больных, по всей видимости, связано с деструкцией и, как следствие, с повышенной проницаемостью гистогематических барьеров. Это, возможно, приводит к выходу широкого спектра тканевых антиоксидантов, обладающих супероксидустраняющей активностью в экстрацеллюлярное пространство, в том числе и в кровь. Подтверждением предполагаемого механизма активации СУА является угнетение интенсивности ХЛ в исследуемых группах больных, что также может явиться следствием действия тканевых антиоксидантов на уровень СРО.

Прямым доказательством нарушения структурно-функционального состояния мембран, их деструкции и повышенной проницаемости являются полученные данные по увеличению концентрации ВЭГ и СПА в плазме крови у пациентов всех трех групп наблюдения. Так, превышение нормы для показателя ВЭГ у пациентов 1-й группы составило 60,57 %, 2-й – 59,86 и 3-й – 60,07 % ($p < 0,001$). Показатель СПА превышал значение здоровых добровольцев в 1-й группе в 2,7 раза, во 2-й – в 2,8 и в 3-й – в 2,6 раза ($p < 0,001$). Однако межгрупповое сравнение указанных выше двух показателей не выявило достоверно значимой разницы величин ($p = 0,5$). На основании этого можно сделать вывод, что при тяжелой сочетанной ЧМТ происходит выраженная деструкция мембран уже в первые

сутки после травмы, однако данная деструкция не зависит от исхода травматической болезни.

С целью углубленного изучения механизмов дестабилизации клеточных мембран при тяжелой сочетанной ЧМТ нами было проведено исследование второй структурной составляющей липопротеидного комплекса мембраны – конформационной структуры молекулы белка. Поскольку сами по себе продукты ПОЛ являются мутагенами, обладающими выраженной цитотоксичностью, то под их воздействием нарушаются структурные конформации мембранных белков, изменяется микровязкость липидного бислоя мембран, вследствие чего подавляется активность гликолиза и окислительного фосфорилирования, ингибируется синтез белка и нуклеиновых кислот, окисляются белковые SH-группы, ингибируются различные цитозольные и мембранно-связанные ферменты [16]. Именно данные модификации белков являются наиболее ранним маркером окислительных воздействий на макромолекулы. По динамике изменения продуктов данной модификации можно судить о степени поражения клетки в условиях окислительного стресса, а также о резервно-адаптационных возможностях организма в целом.

Данные по показателям окислительной модификации белка у пациентов рассматриваемых групп при поступлении отображены в табл. 4.

Таблица 4

Данные по окислительной модификации белков у пациентов рассматриваемых групп при поступлении

Показатели хемиллюминесценции, ед.флу/мг	Показатели здоровых добровольцев (n=14)	Группы сравнения (p – значимость различий по сравнению с нормой)		
		1-я (n=16)	2-я (n=10)	3-я (n=40)
Obsh flu	2,02 (1,97;2,08)	1,75 (1,63;2,0) p=0,01	1,65 (1,54;2,0) p<0,001	1,74 (1,59;1,9) p<0,001
Triptof flu	1,06 (0,96;1,16)	0,94 (0,91;1,23) p=0,73	0,94 (0,91;0,98) p=0,03	1,1 (0,93;1,18) p=0,79
Golub flu	0,57 (0,54;0,65)	0,1 (0,08;0,12) p<0,001	0,08 (0,06;0,09) p<0,001	0,1 (0,08;0,11) p<0,001
Sheloc flu	0,28 (0,25;0,34)	0,14 (0,1;0,23) p<0,001	0,12 (0,11;0,13) p<0,001	0,15 (0,12;0,18) p<0,001

В первые сутки травматической болезни показатель Obsh flu во всех трех группах наблюдения определялся на уровне ниже значения здоровых доноров. Тушение белковой флюоресценции происходит за счет разрыхления мембран и «всплывания» (уменьшения уровня погружения) белков из липидного матрикса, т.е. за счет увеличения контакта их поверхностных люминофоров с молекулами воды.

Golub flu характеризует уровень внутри- и межмолекулярных сшивок, образуемых взаимодействием промежуточных продуктов ПОЛ типа МДА с аминокислотными соединениями (белками, пептидами, нуклеотидами, нуклеиновыми кислотами). У пациентов трех групп наблюдения в первые сутки после травмы данный показатель имеет крайне низкие значения: разница с нормой в 1 и 3-й группах составляет 82,46 %, а во 2-й – 85,96 ($p < 0,001$). Вероятно, что в группах наблюдения конформационные модификации произошли в ранние сроки посттравматического периода.

Показатель Sheloc flu характеризует уровень циклических аминокислот, подвергнутых окислительной модификации, в том числе уровень тирозин-тирозинных сшивок в белках. У пациентов анализируемых групп определялось уменьшение данного показателя в первые сутки посттравматического периода ($p < 0,001$).

Проанализировав данные изменения, можно утверждать, что множественные повреждения, полученные при сочетанной ЧМТ, являются причиной избыточной пероксидации, которая приводит к дополнительным нарушениям структуры биомембраны с пространственной дезориентацией их белково-липидных комплексов.

Головной мозг при травме испытывает дополнительное (вторичное) воздействие со стороны систем организма, призванных быть защитными, но приобретающими статус вторичных повреждающих факторов при их повышенной продукции на фоне дезадаптации организма. Изучение патофизиологических процессов при травматической болезни, их взаимодействия и взаимосвя-

висимости помогут найти грань между течением болезни как типового патологического процесса с адаптационной направленностью организма и переходом его в критическое состояние со срывом системы адаптации.

Литература

1. *Selye H.* The evolution of the stress concept // Amer. Scient. 1973. Vol. 61. P. 692 – 699.
2. *Анохин П.К.* Очерки по физиологии функциональных систем. М., 1975. 446 с.
3. *Курашкова И.В.* Сочетанная механическая травма : учеб.-метод. пособие. Вып. XXI. Неврологические осложнения травматической болезни / под. общ. ред. Ю.А. Щербука и С.Ф. Багненко. СПб., 2008. 154 с.
4. Травматическая болезнь / под ред. П.И. Дерябина, О.С. Насонкина. Л., 1987. 304 с.
5. *Мальши И.Р., Козлов В.К., Зержебловская Л.В.* Профиль циркулирующих цитокинов и их продукция мононуклеарами в динамике посттравматического периода у пострадавших с политравмой // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6, № 3. С. 49–56.
6. *Верховский А.И., Курашкова И.В.* Сочетанная механическая травма : учеб.-метод. пособие. Вып. 19. Сочетанная черепно-мозговая травма. СПб., 2007. 59 с.
7. *Шестаков В.А., Бойчевская Н.О., Шерстаева М.П.* Хемилюминесценция плазмы крови в присутствии перекиси водорода // Вопросы мед. химии. 1979. Т. 23, вып. 2. С. 132 – 137.
8. *Стальная И.Д., Горшвили Т.Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 66 – 68.
9. *Bidlack W.R., Tappel A.S.* Fluorescent. products of phospholipids during lipid peroxidation // Lipids. 1973. Vol. 68, № 4. P. 203 – 209.
10. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16 – 19.
11. *Сирота Т.В.* Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопр. мед. химии. 1999. № 3. С. 14 – 15.
12. *Меньшиков В.В.* Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / под ред. В.В. Меньшикова. М., 1987. С. 107 – 108.
13. *Камышиников В.С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск, 2000. Т. 1–2. 453 с.
14. *Gutteridge J.M., Wilkins S.* Copper salt-dependent hydroxyl radical formation. Damage to proteins acting as antioxidants // Biochim Biophys Acta. 1983. Aug. 23. Vol. 759(1–2) P. 38 – 41.
15. *Жукова О.Ю.* Патогенетическая значимость активации свободнорадикальных процессов в печени при алкоголизации на фоне сахарного диабета: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Омск, 2008. 23 с.
16. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation / R.T. Dean [et al.] // Biochem J. 1997. May 15. Vol. 324 (Pt 1). P. 1 – 18.

Поступила в редакцию

17 октября 2011 г.