

© Коллектив авторов, 2007
УДК 617.58-002.4-06:577.11::547.915

В.В. Кузьмин, О.Л. Андреева, О.М. Заздравных

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ДО И ПОСЛЕ АМПУТАЦИИ НИЖНЕЙ КОНЕЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ ГАНГРЕНОЙ

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (ГОУ ВПО УГМА Росздрава) (ректор — проф. С.М.Кутепов)

Ключевые слова: пероксидация липидов, атеросклеротическая гангрена, периоперационный период.

Введение. Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей обусловлены системным атеросклерозом с поражением аорты и артерий нижних конечностей [7]. Атеросклеротический процесс в сосудах нижних конечностей сопровождается снижением магистрального кровотока, тканевой гипоксией нижних конечностей, развитием метаболического ацидоза, перестройкой окислительно-восстановительных процессов на тканевом и клеточном уровнях, нарушением процессов перекисного окисления липидов [4]. Проведенное исследование активности ПОЛ при различных типах поражения сосудов нижних конечностей продемонстрировало постепенное его нарастание по мере нарушения микроциркуляции нижних конечностей [2]. Недавние исследования в клинике показали, что даже небольшая операция может вызвать активацию процессов ПОЛ [9, 10]. Тканевое повреждение сопровождается повышением интенсивности процессов пероксидации в клетках и развитием оксидативного стресса [12]. Увеличение свободных кислородных радикалов может сопровождаться активацией полиморфно-ядерных лейкоцитов и продукцией лейкотриенов, что, в свою очередь, вызывает повреждение ткани и ускоряет воспалительные реакции [1, 11]. Работ, посвященных изучению ПОЛ в периоперационном периоде при высокой ампутации конечности у пациентов с атеросклеротической гангреной, в доступной литературе не найдено.

Цель исследования — изучение активности процессов перекисного окисления липидов в крови у пациентов с атеросклеротической гангреной нижней конечности до и после ее ампутации.

Материалы и методы. Проспективное, контролируемое исследование проведено за период с 2003 по

2005 г. у 60 пациентов (46 мужчин и 14 женщин) в возрасте от 50 до 86 лет (в среднем $67,7 \pm 1,1$ года) с атеросклеротической гангреной, которым была выполнена операция ампутации нижней конечности на уровне бедра. Пациенты проспективного исследования были разделены на две группы: 1-я группа — пациенты без гнойно-воспалительных осложнений в раннем послеоперационном периоде (49 человек), 2-я группа — пациенты с нагноением в послеоперационной ране в раннем послеоперационном периоде (11 человек), из них у двоих пациентов развился раневой сепсис. Группа контроля составляла 25 пациентов в возрасте 60–76 лет (в среднем $67,8 \pm 1,0$ год) с дисциркуляторной энцефалопатией II степени без клинических и лабораторных признаков воспалительных 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 (I этап), на 1–2-е сутки (II этап) и 4–5-е сутки после операции (III этап).

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики с вычислением среднего (М) и стандартной ошибки (m), с применением t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа. Для выявления и оценки зависимостей применялся парный корреляционный анализ — коэффициент корреляции Пирсона. Для расчета полученных результатов использовали пакет прикладных программ «SPSS Base 7,5» для Windows.

Результаты и обсуждение. Исследование основных продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в контрольной группе выявило следующее: массовая

концентрация МДА составила ($0,116 \pm 0,011$) моль/л, СОД ($269,1 \pm 12,5$) у.ед./гНв·мин, АОА ($45,9 \pm 2,2$)% (таблица). Сравнительная оценка состояния ПОЛ у пациентов до операции с группой контроля показала статистически достоверное увеличение концентрации МДА до операции в 1-й и во 2-й группе в 2,2 и 2,1 раза ($p < 0,001$). При исследовании до операции концентрации ферментов АОС в группах исследования в сравнении с контролем обнаружено следующее: значительное уменьшение АОА сыворотки соответственно на 22,4% ($p < 0,01$) и 20,4% ($p < 0,05$) и отсутствие достоверных изменений концентрации СОД гемолизата. Сравнение МДА, АОА и СОД между 1-й и 2-й группой до операции не выявило достоверных различий.

Мониторинг концентрации конечного продукта ПОЛ до и после операции не выявил достоверных изменений на этапах исследования в группе пациентов без гнойно-воспалительных осложнений. Однако отмечена тенденция в увеличении концентрации МДА на 1–2-е сутки на 13,5% ($p > 0,05$) в сравнении с исходным уровнем и уменьшение его концентрации на 4–5-е сутки в сравнении с уровнем МДА на 1–2-е сутки на 16,5% ($p > 0,05$). В группе пациентов с гнойно-воспалительными осложнениями также отмечено увеличение концентрации МДА на 1–2-е сутки на 23,5% ($p > 0,05$) и его дальнейшее увеличение на 4–5-е сутки на 40,3% ($p < 0,05$) в сравнении с исходным уровнем. При межгрупповом сравнении выявлено существенное увеличение концентрации МДА на 4–5-е сутки на 44,5% ($p < 0,001$) в группе пациентов с гнойно-воспалительными осложнениями в сравнении с группой без осложнений.

Динамика показателей СОД в 1-й и 2-й группе не имела достоверных различий в течение исследования. Так, среднее значение СОД уменьшалось на 1–2-е сутки соответственно на 2,1% и 5,2% в сравнении с дооперационным уровнем ($p > 0,05$) и

увеличивалось на 8,2% и 12,8% на 4–5-е сутки в сравнении с уровнем СОД на 1–2-е сутки после операции ($p > 0,05$). При этом следует отметить достоверно большую величину СОД гемолизата на 11,8% ($p < 0,05$) в группе пациентов без гнойно-воспалительных изменений в сравнении с группой контроля на 4–5-е сутки после операции. Среднее значение АОА в группе пациентов без гнойно-воспалительных осложнений имело тенденцию к увеличению на 1–2-е сутки на 6,6% и достоверное увеличение на 4–5-е сутки на 19% ($p < 0,05$) в сравнении с дооперационным уровнем. Величина среднего значения АОА в группе пациентов с гнойно-воспалительными осложнениями в течение пред- и послеоперационного периода существенно не изменялась.

При проведении корреляционного анализа была выявлена слабая связь между степенью некроза перед началом операции с уровнем МДА ($r = 0,2$) и активностью СОД ($r = -0,1$), а также умеренная обратная связь между МДА и СОД ($r = -0,32$). На этапах исследования после операции в группе пациентов с нагноением послеоперационной раны отмечена слабая обратная связь между МДА с СОД ($r = -0,1$) и МДА с АОА ($r = -0,26$) и слабая прямая связь между СОД и АОА ($r = 0,1$). В группе пациентов без гнойных осложнений выявлена слабая прямая корреляционная связь между МДА с СОД ($r = 0,2$) и МДА с АОА ($r = 0,1$), а также между СОД и АОА ($r = 0,28$).

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 нена-

Уровень МДА, СОД, АОА у пациентов с гангреной нижней конечности до и после операции ($M \pm m$)

Группы	МДА, ммоль			АОА, %			СОД, у.ед./гНв·мин		
	I этап	II этап	III этап	I этап	II этап	III этап	I этап	II этап	III этап
1-я (n=53)	$0,261 \pm 0,02$	$0,302 \pm 0,02$	$0,252 \pm 0,02$	$35,1 \pm 2,5$	$37,6 \pm 2,8$	$44,0 \pm 2,6^*$	$286,3 \pm 10,3$	$280,2 \pm 10,9$	$304,9 \pm 10,1$
2-я (n=12)	$0,243 \pm 0,03$	$0,318 \pm 0,04$	$0,407 \pm 0,05^*$	$36,5 \pm 4,1$	$33,8 \pm 4,3$	$36,4 \pm 3,4$	$265,4 \pm 17,5$	$251,5 \pm 15,7$	$288,1 \pm 19,4$
Группа контроля (3-я) (n=25)	$0,12 \pm 0,01$					$45,9 \pm 1,6$		$269,1 \pm 12,5$	
p — между 1-й и 2-й	—	—	$p < 0,001$	—	—	—	—	—	—
p — между 1-й и 3-й	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,01$	—	—	—	—	$p < 0,05$
p — между 2-й и 3-й	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	—	—	—

* $p < 0,05$ между I и III этапами.

сыщенных 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 [6]. При этом активируются ферментные системы, продуцирующие супероксидные радикалы и гидроперекиси [1, 13]. 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, 5].

В процессе ПОЛ, кроме первичных продуктов, наблюдается накапливание большого количества вторичных продуктов окисления, которые являются мутагенами и обладают выраженной цитотоксичностью. Наиболее важными из них являются ненасыщенные альдегиды, МДА и продукты его взаимодействия с аминсодержащими соединениями — флюоресцирующие шиффовы основания [1, 6]. Результаты мониторинга процессов ПОЛ и активности АОС до операции и в послеоперационном периоде выявили тенденцию к увеличению МДА на 1–2-е сутки после операции с последующим возвращением к дооперационному уровню на 4–5-е сутки у больных без осложненного течения послеоперационного периода. Однако у пациентов с нагноением послеоперационной раны наблюдалось увеличение концентрации МДА в 1,9 раза на 4–5-е сутки после операции по сравнению с предоперационными данными. 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, а также активацией полиморфно-ядерных лейкоцитов и развитием воспалительных изменений в тканях [8,9].

Динамика изменения активности ферментов АОС показала тенденцию к уменьшению средних

значений СОД на 1–2-е сутки и увеличению этих значений на 4–5-е сутки. Особенно заметными были изменения концентрации ферментов АОА в группе больных без гнойно-воспалительных осложнений, когда показатель ферментов АОА на 4–5-е сутки превысил дооперационный уровень и достиг уровня активности ферментов 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 [10], которые наблюдали увеличение активности СОД при операции холецистэктомии на 1–2-е сутки с возвращением к исходному уровню на 6-й 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 пациентов без осложненного течения послеоперационного периода отмечена сбалансированность систем ПОЛ и АОС с их однонаправленной реакцией, что сопровождалось возвращением ПОЛ к дооперационному уровню. Однако у больных с нагноением послеоперационной раны сохранялся высокий уровень процессов ПОЛ с тенденцией к уменьшению активности ферментов АОС, что могло способствовать неблагоприятному исходу заболевания. Так как происходящие изменения процессов СРО липидов могут оказывать отрицательное воздействие на сердечно-сосудистую систему, способствуя развитию сердечной недостаточности и аритмий [3, 5], нарушению коронарного и мозгового кровотока [10, 13], увеличению риска тромбозов и тромбоэмболий [10].

Выводы. 1. Тяжелое атеросклеротическое поражение сосудов нижних конечностей сопровождается активацией перекисного окисления липидов и снижением количества и активности антиоксидантной системы.

2. Операционная травма сопровождается дальнейшим напряжением системы свободнорадикального окисления липидов.

3. Найденная корреляция между ПОЛ и АОС позволяет прогнозировать развитие гнойных осложнений в раннем послеоперационном периоде.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Барабой В.А. Роль перекисного окисления в механизме стресса // Физиол. журн. — 1989. — Т. 35, № 5. — С. 85–97.
2. Давиденкова Е.Ф., Либерман И.С., Мельникова В.П. и др. Показатели липидного обмена и системы перекисного окис-

- ления липидов у лиц с различными типами поражения сосудов нижних конечностей // Клин. мед.—1992.—№ 5/6.—С. 39–42.
3. Давиденкова Е.Ф., Шафран М.Г. Атеросклероз и процесс перекисного окисления липидов // Вестн. АМН СССР.—1989.—№ 3.—С. 10–18.
4. Климов А.Н., Никульчева Н.П. Липиды, липопротеиды и атеросклероз.—СПб.: Питер Пресс, 1995.—С. 190–192.
5. Коновалова Г.Г., Ланкин В.З., Бескровнова Н.Н. Роль ингибиторов свободнорадикального перекисного окисления липидов в защите миокарда от ишемического повреждения // Арх. пат.—1989.—Т. 51, № 6.—С. 19–24.
6. Ланкин В.З., Вихерт А.М. Перекисное окисление липидов в этиологии и патогенезе атеросклероза // Арх. пат.—1989.—Т. 51, № 1.—С. 80–85.
7. Савельев В.С., Кошкин В.М., Каралкин А.В., Тарковский А.А. Критическая ишемия нижних конечностей: определения понятия и гемодинамическая характеристика // Ангиология и сосуд. хир.—1996.—№ 3.—С. 84–90.
8. Таран Ю.П., Николаев А.В., Мамедов Л.А. и др. Динамика изменений активности перекисного окисления липидов и интенсивности тканевого дыхания при заживлении асептических и инфицированных ран в эксперименте // Бюл. экпер. биол.—1988.—Т. 105, № 5.—С. 552–554.
9. Anup R., Aparna V., Pulimood A., Balasubramanian K.A. Surgical stress and the small intestine: role of oxygen free radicals // Surgery.—1999.—Vol. 125, № 5.—P. 560–569.
10. Dzieciuchowicz L., Checinski P., Krauss H. Heparin reduces oxidative stress in the postoperative period // Med. Sci. Monit.—2002.—Vol. 8.—P. 657–660.
11. Goldman G., Welbourn R., Klausner J.M. et al. Oxygen free radicals are required for ischemia-induced leukotriene B₄ synthesis and diapedesis // Surgery.—1992.—Vol. 111.—P. 287–293.
12. Guerra E.J. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment // An. Med. Interna.—2001.—№ 6.—P. 326–335.
13. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system // Haemostasis.—1993.—Vol. 23 (Suppl. 1).—P. 118–126.

Поступила в редакцию 28.08.2006 г.

V.V.Kuzmin, O.L.Andreeva, O.M.Zazdravnykh

LIPID PEROXIDATION BEFORE AND AFTER AMPUTATION OF THE LOWER EXTREMITY IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROTIC GANGRENE

Activity of lipid peroxidation processes in blood was studied in 60 patients with atherosclerotic gangrene of the lower extremity subjected to amputation of the extremity in a prospective controlled investigation. Activation of the lipid peroxidation processes with a lower number and less activity of the antioxidant system enzymes was demonstrated in patients with severe critical ischemia of lower extremities. The operation trauma was followed by further stress of the system of free radical oxidation of lipids. The increased concentration of lipid peroxidation products with a decreased or low level of activity of the antioxidant system enzymes allows prognosis of the development of purulent complications at the early postoperative period.