

© С.М.Лазарев, Н.П.Кораблева, 2006
УДК 615.38-06:612.12

С.М.Лазарев, Н.П.Кораблева

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ, МЕТАБОЛИЗМ ОКСИДА АЗОТА, ЖЕЛЕЗА И УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА ПРИ АУТОГЕМОТРАНСФУЗИИ И ПЕРЕЛИВАНИИ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

Кафедра хирургических болезней медико-профилактического факультета с курсом малоинвазивной хирургии, эндоскопии и лазерных медицинских технологий ФПК (зав. — проф. С.М.Лазарев) Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова

Ключевые слова: аутогемотрансфузия, кортизол, оксид азота, железо, свободнорадикальные процессы, хирургия.

Введение. В настоящее время роль свободнорадикальных процессов в патогенезе значительного числа наиболее распространенных заболеваний не подвергается сомнению [5]. Активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) является неспецифической реакцией на воздействие стрессорных факторов различной природы: гипер- и гипоксии, гипер- и гипотермии, воздействия радиации, гиподинамии, повышенной физической активности, воздействия механических, физических и химических факторов, кровопотери, интоксикации, действия лекарственных веществ, в том числе средств для наркоза, травмы, в том числе хирургической, голодания, гипер- и дегидратации, электролитных нарушений, психоэмоциональных факторов [7].

Активизация антиоксидантной защиты в ответ на интенсификацию процессов ПОЛ вызывает снижение содержания активных форм кислорода (АФК) и перекисей, иногда до субнормального уровня. При сверхсильном и продолжительном воздействии экстремального фактора резервы антиоксидантной системы истощаются и возникает вторая вспышка активности ПОЛ, носящая, в отличие от первой, не защитно-приспособительный, а патологический характер [3, 10]. Таким образом, дальнейшее изучение процессов ПОЛ при хирургических заболеваниях, в частности при оператив-

ных вмешательствах, сопровождающихся кровевосполнением, является одним из перспективных направлений, способных внести реальный вклад в понимание патогенеза и оптимизацию терапии больных с кровопотерей.

Цель исследования — изучение основных закономерностей изменения процессов перекисного окисления и антиперекисной защиты у пациентов с различными вариантами кровевосполнения.

Материал и методы. Исследованы показатели, характеризующие антиоксидантные свойства, метаболизм оксида азота, метаболизм железа и содержание кортизола у 33 пациентов (17 мужчин и 16 женщин) с интраоперационным вариантом забора крови и у 33 пациентов (18 мужчин и 15 женщин), которым осуществлено переливание донорской крови. Это пациенты, оперированные по поводу заболеваний органов груди, брюшной полости и магистральных артерий конечностей.

Состояние ПОЛ оценивали по содержанию в сыворотке крови диеновых конъюгатов [9]. Антиоксидантные свойства сыворотки оценивали определением антирадикальной активности с использованием 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (ДФПГ) [11]. Метаболизм оксида азота характеризовался сывороточными значениями нитритов, определяемых при помощи реактива Грисса [12]. Метаболизм железа исследовали путем определения содержания в сыворотке крови: железа, ферритина и трансферрина [13] с использованием DiaSys Diagnostic Systems (Germany). По содержанию кортизола в крови оценивали степень операционного стресса [8, 11].

Перечисленные показатели исследовали на следующих шести этапах периоперационного периода: после введения пациента в анестезию, перед восполнением кровопотери, через 4–6 ч после окончания операции, в 1-е, 5-е и 10-е сутки послеоперационного периода.

В табл. 1 представлен перечень и обозначения показателей, характеризующих в плазме крови ПОЛ, антиоксидантные свойства, метаболизм оксида азота, метаболизм железа.

Таблица 1

Обозначения показателей, характеризующих в плазме крови перекисное окисление липидов, антиоксидантные свойства, метаболизм оксида азота, метаболизм железа

Параметр	Обозначение	Значение в норме
Диеновые конъюгаты	ДК	4–4,5 (мкмоль/мл)
Антирадикальная активность	АРА	760–900 (мкмоль/мл)
Нитриты	нитриты	4,0–6,0 (мкмоль/мл)
Железо сывороточное	Fe сыв	Мужчины: 6,3–30,1 (мкмоль/мл) Женщины: 4,0–29,5 (мкмоль/мл)
Ферритин	Ферр	Мужчины: 30–300 (мкг/л) Женщины: 10–160 (мкг/л)
Трансферрин	ТФ	2,0–3,6 (г/л)
Кортизол	кортизол	150–660 (нмоль/л)

Для статистических расчетов были использованы непараметрические критерии, что обусловлено тем, что массив данных не имеет нормального распределения.

Результаты и обсуждение. В табл. 2 представлены параметры крови, характеризующие ПОЛ, антиоксидантные свойства, метаболизм оксида азота, метаболизм железа, содержание кортизола у пациентов исследуемых групп.

Содержание ДК статистически не различалось в исследуемых группах перед введением в анестезию и составило 3,80 (3,45–4,04) мкмоль/мл в группе пациентов с интраоперационным забором крови и 3,91 (3,53–4,29) мкмоль/мл в группе с использованием донорской крови ($p=0,620$). На II, III и IV этапах периоперационного периода происходят статистически незначимые изменения содержания ДК. С 5-х суток послеоперационного периода происходит резкое его увеличение до 4,64 (4,15–5,12) мкмоль/мл, в группе пациентов, у которых для восполнения кровопотери использовали

донорскую кровь. Через 10 сут после оперативного вмешательства содержание ДК возрастает до 5,04 (4,92–5,16) мкмоль/мл. Изменения в показателях ДК у пациентов исследуемых групп достоверно различаются на V ($p=0,01$) и VI ($p=0,03$) этапах послеоперационного периода.

При динамическом исследовании показателей АРА выявлены следующие изменения: на момент введения в анестезию АРА в исследуемой группе составила 826 (761–888) мкмоль/мл, а в группе с использованием донорской крови — 875 (836–914) мкмоль/мл. Эти различия статистически незначимы ($p=0,120$). К моменту восполнения кровопотери происходит практически параллельное снижение АРА в обеих группах. В дальнейшем, через 4–6 ч после оперативного вмешательства и на утро дня, следующего за операцией, показатели АРА возрастают в обеих группах. Через 5 сут после оперативного вмешательства происходит резкое снижение АРА, почти до исходных величин, в группе с использованием донорской крови, которое сохраняется и через 10 сут после оперативного вмешательства. В противоположность этому в группе с интраоперационным забором крови, через 5 сут после операции сохраняются высокие показатели АРА 1002 (925–1080) мкмоль/мл, которые незначительно снижаются к 10-м суткам послеоперационного периода — 988 (946–1029) мкмоль/мл. Статистически значимые различия в исследуемых группах имеют место на V ($p=0,04$) и VI ($p=0,03$) этапах периоперационного периода.

Изменения показателей нитритов на начальных этапах периоперационного периода были статистически значимыми. Перед введением в анестезию содержание нитритов в группе с интраоперационным забором крови было 4,75 (4,32–5,72) мкмоль/мл против 6,87 (6,13–7,61) мкмоль/мл в группе с использованием донорской крови ($p=0,01$).

Таблица 2

Показатели крови, характеризующие перекисное окисление липидов, антиоксидантные свойства, метаболизм оксида азота, метаболизм железа, содержание кортизола при интраоперационном способе забора крови и при использовании донорской крови

Параметры	Этапы периоперационного периода																	
	I			II			III			IV			V			VI		
	и	к	р	и	к	р	и	к	р	и	к	р	и	к	р	и	к	р
ДК, мкмоль/мл	3,8	3,91	0,62	3,89	3,73	0,77	3,75	3,58	0,88	3,96	4,04	0,77	3,79	4,64	0,01	3,8	5,04	0,03
АРА, мкмоль/мл	826	875	0,12	787	810	0,09	903	953	0,77	1082	1010	0,09	1002	827	0,04	988	822	0,03
Нитриты, мкмоль/мл	4,75	6,87	0,01	6,48	8,39	0,03	7,95	8,33	0,77	7,14	5,52	0,02	6,32	5,65	0,48	5,42	6,1	0,04
Fe сыв., мкмоль/мл	24,3	19,8	0,57	16	19,7	0,26	24	10,5	0,16	12,9	9,05	0,09	12,3	14	0,88	13,8	16,9	0,03
Ферр., мкг/л	72	28	0,01	55	31	0,02	72	43	0,02	108	63	0,03	84	98	0,48	90	63	0,11
ТФ, г/л	2,57	2,9	0,03	2,11	2,44	0,12	2,44	2,57	0,26	2,15	2,51	0,32	2,31	2,58	0,20	2,66	2,74	0,07
Кортизол, нмоль/л	334	260	0,13	526	737	0,06	273	889	0,04	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Примечание: и — интраоперационный забор аутокрови, к — донорская кровь.

К моменту восполнения кровопотери происходит линейное увеличение исследуемого показателя в обеих группах с сохранением статистической разницы ($p=0,03$). Линейное увеличение содержания нитритов имеет место в группе с интраоперационным забором крови и через 4–6 ч после оперативного вмешательства. Затем в этой группе пациентов происходит линейное снижение содержания нитритов на последующих этапах периоперационного периода до 5,42 (4,84–6,18) мкмоль/мл к 10-м суткам после оперативного вмешательства. В группе с использованием донорской крови для восполнения кровопотери через 4–6 ч после оперативного вмешательства содержание нитритов составило 8,33 (7,12–9,54) мкмоль/мл, практически не изменившись по сравнению с предыдущим этапом. В 1-е сутки после операции происходит резкое статистически значимое ($p=0,02$) снижение содержания нитритов до 5,52 (4,92–6,12) мкмоль/мл. Дальнейшие изменения содержания нитритов в этой группе незначительны. Но следует отметить, что содержание нитритов у пациентов обеих групп на 10-е сутки после оперативного вмешательства статистически ($p=0,04$) отличается друг от друга 5,42 (4,84–6,18) мкмоль/мл против 6,1 (5,19–7,01) мкмоль/мл.

При динамическом исследовании показателей сывороточного железа наиболее существенные различия между группами выявлены через 4–6 ч после оперативного вмешательства, когда его содержание в группе с интраоперационным забором крови увеличилось с 16 (9,3–20,1) мкмоль/мл до 24,0 (7,2–28,0) мкмоль/мл, а в группе с использованием донорской крови снизилось с 19,7 (7,8–31,5) мкмоль/мл до 10,5 (8–12,9) мкмоль/мл. При разнице в показателях более чем в 2 раза статистическая значимость между ними отсутствует ($p=0,160$). Дальнейшая динамика показателей сывороточного железа у пациентов обеих групп статистически незначима. Но имеющиеся к 10-м суткам послеоперационного периода различия в содержании сывороточного железа, носят статистически значимый характер 13,8 (8,75–15,1) мкмоль/мл в группе с интраоперационным забором крови против 16,9 (7,8–31,5) мкмоль/мл в группе с использованием донорской крови; $p=0,03$).

Из табл. 2 видно, что исходно имеют место статистически значимые различия между обеими группами по содержанию ферритина. В группе с интраоперационным вариантом забора крови содержание ферритина в 2,5 раза больше чем в группе с использованием донорской крови (соответственно 72 (25–92) мкг/л против 28 (12–44) мкг/л; $p=0,01$). К моменту восполнения кровопотери содержание ферритина в группе

пациентов с интраоперационным забором крови снижается до 55 (16–65) мкг/л, а в группе пациентов с использованием донорской крови возрастает до 31 (10–51) мкг/л. Разница в исследуемых группах статистически достоверна ($p=0,02$). На III и IV этапах периоперационного периода происходит однотипное параллельное увеличение содержания ферритина в обеих группах, с сохранением статистически значимой разницы между группами. На 5-е сутки после операции в группе с интраоперационным забором крови происходит снижение содержания ферритина до 84 (43–157) мкг/л, а в группе с использованием донорской крови продолжается имевшее место на предыдущих этапах его повышение до 98 (18–177) мкг/л. Но, через 10 сут после оперативного вмешательства направленность динамики ферритина в исследуемых группах диаметрально противоположно меняется: в группе пациентов с интраоперационным забором крови содержание ферритина возрастает до 90 (49–159) мкг/л, а в группе с использованием донорской крови снижается до 63 (30–96) мкг/л. Разница между показателями в группах статистически незначима ($p=0,110$).

Перед введением в анестезию имеются статистически значимые различия в содержании трансферрина в исследуемых группах: 2,57 (2,24–2,83) г/л в группе с интраоперационным забором крови и 2,90 (2,66–3,14) г/л в группе пациентов с восполнением кровопотери донорской кровью ($p=0,03$). В дальнейшем на всех этапах периоперационного периода происходят односторонние колебания содержания трансферрина в обеих группах с отсутствием достоверной разницы в показателях.

Показатели кортизола на начальном этапе исследования в группе пациентов с интраоперационным забором крови составили 334 (271–379) нмоль/л, а в группе с использованием донорской крови 260 (253–266) нмоль/л. Несмотря на различия в средних значениях статистически значимая разница между ними отсутствует ($p=0,13$). В дальнейшем отмечается устойчивая тенденция к более высоким показателям кортизола в группе с использованием донорской крови, которая через 4–6 ч после оперативного вмешательства носила статистически значимый ($p=0,04$) характер: 889 (889–889) нмоль/л против 273 (216–614) нмоль/л.

Полученные результаты свидетельствуют о прооксидантных изменениях в группе пациентов, которым переливалась донорская кровь. Наряду с увеличением содержания перекисей липидов у больных этой группы отмечается снижение антирадикальной активности, кото-

рое сохраняется через 5–10 сут после оперативного вмешательства.

Проведенные исследования показали, что усиление процессов ПОЛ сопровождается интенсификацией образования оксида азота. Оксид азота (эндотелий-зависимый релаксирующий фактор), синтезируемый в эндотелии сосудов, обеспечивает расслабление гладкой мускулатуры сосудистой стенки и регулирует уровень артериального давления, коронарный и органный кровоток, а также предотвращает агрегацию тромбоцитов [4]. Существует мнение, что модуляция интенсивности образования в организме оксида азота изменяет характер течения процессов ПОЛ, белков и состояние антиоксидантной системы [2, 6]. Можно предположить, что усиление синтеза оксида азота при переливании донорской крови носит компенсаторный характер и направлено на замедление процессов ПОЛ.

Выводы. 1. Переливание донорской крови сопровождается активацией процессов ПОЛ и снижением антирадикальной активности, что негативно влияет на прогноз и исход заболевания, по поводу которого выполнялось оперативное вмешательство.

2. Повышение содержания оксида азота в группе пациентов с использованием донорской крови обусловлено его участием в механизмах антиоксидантной защиты.

3. Содержание сывороточного железа достоверно выше на 10-е сутки послеоперационного периода в группе пациентов, у которых для восполнения кровопотери использовали донорскую кровь.

4. Содержание ферритина в группе пациентов с использованием донорской крови ниже перед введением в анестезию и к моменту восполнения кровопотери.

5. Высокие показатели кортизола в группе с использованием донорской крови через 4–6 ч после оперативного вмешательства свидетельствуют о более выраженном стресс-реализующем действии донорской крови, по сравнению с аутогемотрансфузией.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Метод. реком.—СПб.: ИКФ Фолиант, 2000.—104 с.
2. Блинецова Г.Н. Пероксидное окисление, антиоксидантная система и оксид азота при токсическом повреждении печени: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—Воронеж, 2004.—22 с.

3. Габитова Д. М., Фахрутдинов Р. Р. Свободнорадикальное окисление в норме и при патологии и способ его изучения // *Здравоохр. Башкортостана*.—2000.—№ 4.—С. 88–89.
4. Григлевский Р.Е. Участие свободных радикалов в преобразовании эндотелиального простагличина и окиси азота // *Новости фармации и медицины*.—1997.—№ 1–2.—С. 2–8.
5. Зайцев В.Г., Закревский В.И. Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // *Вестн. Волгоградской мед. акад.* — Т. 54, вып. 4.—Волгоград, 1998.—С. 49–53.
6. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Эффект ингибирования NO-синтазы на кислородтранспортную функцию крови при лихорадке у кроликов // *Физиол. журн.*—1997.—Т. 82, № 6.—С. 11–26.
7. Казимирко В.К., Мальцев В.И., Бутылин В.Ю., Горобец Н.И. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия.—К.: Морион, 2004.—160 с.
8. Осипова Н.А. Пропофол в современной поликомпонентной общей анестезии // *Вестн. интенсивной тер.*—1999.—№ 1.—С. 39–42.
9. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот // *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича.—М.: Медицина, 1977.—С. 63–64.
10. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система: Теория, клиническое применение, методы.—Пермь, 1992.—145 с.
11. Cattail V.M., Arci R.A. Патология физиология эндокринной системы: Пер. с англ.—СПб., М.: Невский Диалект — БИНОМ, 2001.—336 с.
12. Green L., Wannger D., Glogowska I. et al. Analysis of nitrate in biological fluids // *Analyt. Biochem.*—1982.—Vol. 126.—P. 131–138.
13. Wick M., Pingerra W., Lehmann P. Iron metabolism: diagnosis and therapy of anemias.—3rd ed.—Vienna, New York: Springer Verlag, 1996.—256 p.

Поступила в редакцию 22.06.2006 г.

S.M.Lazarev, N.P.Korableva

STATE OF FREE RADICAL PROCESSES, METABOLISM OF NITROGEN OXIDE, IRON AND CORTISOL LEVEL IN AUTOHEMOTRANSFUSION AND TRANSFUSION OF THE DONOR BLOOD

Under study were the main regularities of changes in processes of peroxidation and antioxidant defense in patients with different methods of operative hemorrhage replacement. Autohemotransfusion was fulfilled in 33 patients; donor blood was transfused to 33 patients. It was concluded that donor blood transfusion gave rise to activation of lipid peroxidation processes and decrease of antiradical activity. Elevation of the level of nitrogen oxide in the group of patients with transfused donor blood was due to its participation in the mechanisms of antioxidant defense. The content of serum iron was reliably higher on the 10th day of the postoperative period in the group of patients with transfused donor blood. The content of ferritin in the group of patients with transfused donor blood was lower before anesthesia and by the moment of blood replacement. High indices of cortisol in patients with transfused donor blood within 4–6 hours after operation suggest that it has a more pronounced stress-realizing effect than autohemotransfusion.