РОЛЬ СЫВОРОТОЧНОГО ЖЕЛЕЗА В АКТИВАЦИИ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Ю. П. Орлов, В. Т. Долгих, А. В. Глущенко, Т. В. Притыкина, А. В. Ершов

Омская государственная медицинская академия;
Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1, Омск

Role of Serum Iron in the Activation of Lipid Peroxidation in Critical Conditions

Yu. P. Orlov, V. T. Dolgikh, A. V. Glushchenko, T. V. Pritykina, A. V. Yershov

Omsk State Medical Academy,
City Emergency Health Care Hospital One, Omsk

Обследовано 24 пациента, находившихся в критическом состоянии, вызванном разлитым гнойным перитонитом, панкреонекрозом, термическими поражениями кожи и тяжелыми отравлениями уксусной кислотой. Выявлены общие закономерности влияния высоких концентраций сывoroточного железа на тяжесть состояния пациентов, на активность ферментов антиоксидантной системы и инициацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что подтверждалось показателями Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции. Установлено, что обмен железа у пациентов, находящихся в критическом состоянии, происходит с перегрузкой такого транспортного белка, как трансферрин, что обусловлено внутрисосудистым гемолизом и метаболизмом гемоглобина до ионизированного железа. Перегрузка белков, ответственных за транспорт железа, приводит к накоплению в тканях свободного (двух-, трехвалентного) железа, которое активно включается в процессы инициации ПОЛ с избыточным синтезом цитотоксичных радикалов, что, в свою очередь, объясняет тяжесть эндотоксикоза. **Ключевые слова:** сывoroточное железо, ионы железа, свободнорадикальное окисление, антиоксиданты, эндотоксикоз.

Twenty-four critically ill patients due to generalized purulent peritonitis, pancreatonecrosis, thermal skin injuries, and severe poisoning by acetic acid were examined. The general regularities of the effect of high serum iron concentrations on the health status of patients, on the activity of antioxidative enzymes, and on the initiation of lipid peroxidation (LPO) processes, as supported by the values of Fe^{2+} -induced chemiluminescence, were revealed. In critically ill patients, iron metabolism occurs with the overload of a transport protein, such as transferrin, which is caused by intravascular hemolysis and hemoglobin metabolism to ionized iron. The overload of proteins responsible for iron transport leads to the tissue accumulation of free (ferrous and ferric) iron that is actively involved in the processes of LPO initiation with excess synthesis of cytotoxic radicals, which in turn accounts for the severity of endotoxycosis. **Key words:** serum iron, iron ions, free radical oxidation, antioxidants, endotoxycosis.

Развитие любого критического состояния или полиорганной недостаточности (ПОН) всегда обусловлено стойкой гипоксией тканей, ацидозом, гипоперфузией органов и тканей с характерной ишемией и вазодилатацией, стазом крови и, как следствие, внутрисосудистым гемолизом (ВСГ) [1–7]. Свободный гемоглобин, геминовые соединения и ионы железа, являясь достаточно агрессивными веществами в отношении клеточных мембран большинства жизненно важных органов (легкие, сердце, печень, почки, мозг), ускоряют разложение гидроперекисей с образованием свободных радикалов, способных к активации новых цепей окисления [5, 6, 8–10]. Последующее окислительное повреждение тканей играет ключевую роль в развитии многих синдромов, в основе которых лежит феномен свободнорадикальной акти-

вации при недостаточности антиоксидантной защиты (АОЗ) [4, 5, 11, 16, 19]. Вполне закономерно, что ВСГ и массивное поступление в кровоток вследствие реперфузии ионов железа могут быть рассмотрены как пусковой фактор активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) с последующим развитием синдрома ПОН у пациентов в критическом состоянии независимо от этиологии основного заболевания.

Целью настоящего исследования являлось определение количества сывoroточного железа в плазме крови у пациентов, находящихся в критическом состоянии различной этиологии, а также влияние железа на степень выраженности эндотоксикоза, состояние антиоксидантной защиты и процессы свободнорадикального окисления (СРО).

Таблица 1

Распределение пациентов с учетом степени тяжести состояния по шкале APACHE II

Нозологическая форма	Группы больных			
	I (n=12)	Баллы	II (n=12)	Баллы
Перитонит	3	23,4±3,2	2	17,9±2,6
Термические ожоги	2	21,9±2,6	3	18,6±2,6
Панкреонекроз	3	22,4±3,2	3	18,8±2,8
Отравления уксусной кислотой	4	22,2±1,5	4	19,1±1,7

Таблица 2

Показатели эндотоксикоза у пациентов в критическом состоянии ($M \pm m$)

Группы наблюдения	Показатели выраженности эндотоксикоза				Температура тела, °C
	Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Палочкоядерные лейкоциты, %	ЛИИ, усл. ед.	ВСММ, усл. ед.	
I (n=12)	15,4±2,11*	14,3±3,98*	7,3±1,03**	0,58±0,045**	38,8±1,23*
II (n=12)	17,3±3,43*	9,24±2,76*	5,2±0,97**	0,41±0,039**	37,8±1,87*
Контроль (n=10)	5,8±2,2	—	0,97±3,1	0,065±0,031	36,5±0,34

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4 и 5: * — $p < 0,05$ в сравнении между группами; ** — $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Материалы и методы

Исследование проведено у 24 пациентов (11 женщин и 13 мужчин), находившихся в критическом состоянии, возникшем на высоте эндотоксикоза у 6 пациентов с разлитым гнойным перитонитом, у 5 пациентов на фоне панкреонекроза, у 5 больных с обширными термическими ожогами и у 8 человек на высоте экзотоксикоза после тяжелого отравления уксусной кислотой. Возраст пострадавших находился в интервале от 22 до 63 лет ($43,3 \pm 11,5$ лет). Пациенты были поделены на две группы по 12 человек в зависимости от тяжести состояния, которое оценивалось по шкале APACHE II (P. L. Marino, 1998): в I группе оценка составила $22,5 \pm 2,9$ баллов, во II группе — $18,5 \pm 3,2$ балла (табл. 1).

Кроме общих клинических исследований, у пострадавших определялся уровень сывороточного железа, общая железосвязывающая способность (ОЖСС), насыщение железом трансферрина с помощью набора реактивов компании «ДИАСИС» (Германия) на автоматическом биохимическом анализаторе «Марс». В лизате эритроцитов определялась активность супероксиддисмутазы (СОД) с помощью реагентов фирмы Randox (Франция), каталазы [20] и уровень глутатиона [4]. Содержание свободных радикалов в плазме крови определялось методом Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) в модификации Р. Р. Фархутдинова [15] с регистрацией следующих параметров: амплитуды быстрой вспышки (h , mV), которая длится несколько секунд и пропорциональна исходному содержанию продуктов ПОЛ; максимальной интенсивности хемилюминесценции (H , mV) или светосуммы; латентного периода (τ) между быстрой вспышкой и максимальной интенсивностью ХЛ, что отражает соотношение про- и антиоксидантов в изучаемой системе. Забор крови проводился в первые сутки госпитализации по выведении пациента из гиповолемического шока. Тяжесть эндотоксикоза оценивалась с учетом количества лейкоцитов, лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) по методу Кальф-Калифа, по уровню веществ средней молекулярной массы (ВСММ) [4] и показателей термометрии.

Полученные результаты оценивались в сравнении с аналогичными параметрами у 10 здоровых лиц того же возраста. Статистическая обработка проводилась с помощью критерия Стьюдента (t).

Результаты и обсуждение

Тяжесть состояния всех пострадавших была обусловлена явлениями эндо- и экзотоксикоза,

относительной или абсолютной (при отравлениях уксусной кислотой) гиповолемией, циркуляторной недостаточностью, энцефалопатией, различной степенью гепато- и нефропатии. Степень выраженности эндотоксикоза у пациентов обеих групп представлена в табл. 2.

Из табл. 3 видно, что уровень сывороточного железа, ОЖСС и % насыщения железом трансферрина превышают нормальные показатели у пациентов обеих групп более, чем в десять раз. Вероятно, у пациентов с отравлениями уксусной кислотой избыток железа необходимо связывать с преобладанием ВСГ и с последующим поступлением в ткани ферритина из травмированных тканей желудка и кишечника. У пациентов же с тяжелым течением перитонита, панкреатита и термическими ожогами ВСГ обусловлен чередой патологических процессов: артериальной гипотензией, гиповолемией и нарушениями микроциркуляции. В последующем стаз крови, гипоксия и ацидоз приводят к задержке в микрососудистом русле и разрушению большого числа эритроцитов.

Вполне закономерно, что острый перитонит, панкреатит и термические ожоги большой глубины и площади сопровождаются деструкцией различных тканей, что также влияет на содержание железа в сыворотке крови и интенсивность его обмена. Анализируя данные табл. 2 и 3, можно отметить, что рост количества сывороточного железа гораздо выше в I группе, где наиболее выражены проявления эндотоксикоза. Общая закономерность заключается в том, что у пациентов данной категории обмен железа страдает чрезвычайно. Трансферрин, лактоферрин, церулоплазмин не в состоянии связать и утилизировать освободившееся за короткий период времени большое количество ионов железа.

Гораздо интереснее, на наш взгляд, показатели системы антиоксидантной защиты, представленные в табл. 4. Как видно из таблицы, актив-

Таблица 3

Показатели обмена железа у пациентов в критическом состоянии ($M \pm m$)

Группы наблюдения	Показатели обмена железа		
	Сывороточное железо, мкмоль/л	ОЖСС, мкмоль/л	% насыщения железом трансферрина
I (n=12)	466,4±33,65*	317,4±39,60**	187,7±31,22*
II (n=12)	278,9±41,20**	216,4±28,65*	127,5±39,10**
Контроль (n=10)	28,6±9,76	48,6±11,43	37,5±10,64

Таблица 4

Показатели системы антиоксидантной защиты у пациентов в критическом состоянии ($M \pm m$)

Группы наблюдения	Исследуемые показатели		
	Каталаза, М.кат./л сыв.	СОД, ед./мл эритроц.	Глутатион, ммоль/л
I (n=12)	198,4±37,55*	588,3±51,44*	1,99±0,112*
II (n=12)	157,3±31,24*	313,5±42,83**	1,72±0,103*
Контроль (n=10)	21,2±4,28	209,4±33,21	1,23±0,112

Таблица 5

Показатели Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции при критических состояниях ($M \pm m$)

Группы наблюдения	Параметры Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции		
	H (mV)	h (mV)	τ
I (n=12)	4,23±0,731**	3,61±0,623**	5,24±0,891*
II (n=12)	3,11±0,891**	2,33±0,451**	3,25±0,733**
Контроль (n=10)	1,12±0,088	2,12±0,055	1,19±0,098

ность каталазы превышает нормальные показатели в несколько раз, что связано с интенсивным поступлением фермента из разрушенных эритроцитов в результате ВСГ, имеющего различный механизм. Гиперферментемия можно связать только с наличием избытка субстрата — перекиси водорода на фоне стойкой ишемии и ацидоза при нарушении микроциркуляции, и чем глубже и дольше ишемия, тем больше уровень сывороточного железа и выше активность каталазы. Вполне возможно, что ВСГ в условиях ишемии является компенсаторной реакцией организма, так как только в эритроцитах содержится значительное количество каталазы. Вероятно, этим объясняется факт наличия в эритроцитах взрослого человека каталазы в количестве до 6 г. Столь громадного количества фермента достаточно для разложения 2000–2300 кг 30% перекиси водорода [16].

Аналогичные выводы можно сделать, оценив показатели СОД и глутатиона, так как высокая активность СОД и повышенное содержание глутатиона может быть индуцировано избыточным образованием супероксидного анион-радикала, перекиси водорода, гидроксильного радикала в условиях ишемии, гипоксии и ацидоза, о чем свидетельствуют наиболее информативные данные Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции, отраженные в табл. 5.

Рост показателей быстрой вспышки (h) и светосуммы (H), увеличение латентного периода (τ) достоверно указывают на интенсивность свободнорадикальных процессов, наличие большого количества активных форм кислорода и превалирование прооксидантов над антиоксидантами.

При различной патологии (острые отравления, синдром реперфузии, гнойно-септические заболевания с исходом в сепсис и др.) система антиоксидантной защиты всегда находится в критическом состоянии [3, 6, 12, 17, 18, 19]. Кризис будет обусловлен тяжелой гипоксией тканей, гипоперфузией органов и тканей с характерной ишемией и вазодилатацией, стазом крови и внутрисосудистым гемолизом (ВСГ), с последующим синдромом реперфузии и массивным поступлением в систему клеточного метаболизма ионов двухвалентного железа, что будет являться универсальным и циклическим процессом потенцирования ПОЛ.

Устранение нарушенной микроциркуляции и возврат к нормоперфузии (а чаще, к гиперперфузии) на фоне гипероксии (ИВЛ, инсультная оксигенация) приводит к быстрому восстановлению Fe^{3+} в Fe^{2+} в реакции Хабер — Вайса за счет избытка супероксидного анион-радикала

и запуску реакций цепного окисления с прогрессирующим синтезом токсичных радикалов (гидроксильного) в реакции Фентона,

и в реакции Осипова,

а также в реакции синтеза пероксинитрита, мощного вазодилатора.

Образовавшийся в результате указанных реакций ион трехвалентного железа, кстати, также токсичный для клеток, в присутствии кислорода вновь превращается в двухвалентный ион и так далее, как схематично отражено на рисунке [8].

Схема избыточного синтеза ферроионов на фоне антиоксидантной недостаточности при развитии критических состояний (по Ю. А. Владимирову, 1998, с дополнениями).

Указанные нарушения гомеостаза создают условия для развития ВСГ. Количество разрушенных эритроцитов будет зависеть от объема крови в зоне ишемии, а также ее длительности. В условиях сохраняющихся нарушений микроциркуляторного русла, гипоксии или гипероксии, процессы свободнорадикального окисления будут протекать в замкнутом цикле (см. рисунок) с доминирующим синтезом цитотоксичных радикалов и ферроионов, что требует адекватной, патогенетически обоснованной коррекции. К этому следует добавить, что при различных по генезу и этиологии заболеваниях, только эритроциты становятся мишенью для окислительного стресса, как источника ферроионов [3, 5, 11, 12].

Таким образом, ВСГ, приводящий к выходу в кровеносное русло большого количества несвязанного железа (Fe^{2+}), является отягчающим фактором для пациентов, находящихся в критическом состоянии с выраженным синдромом экзо- и эндогенной интоксикации (в результате острого тяжелого отравления уксусной кислотой, при различных видах шока,

гнойно-септических заболеваниях с исходом в сепсис и др.), что сопоставимо с данными других исследований [1, 6, 10].

Выше названные биохимические процессы вполне объясняют трудности, испытываемые в клинической практике, при устранении гипоксии тканей, метаболического ацидоза и стойкой артериальной гипотензии на фоне сниженного периферического сопротивления сосудов с помощью высоких доз вазопрессоров, большого объема инфузионной терапии у пациентов, находящихся в критическом состоянии.

Таким образом, развитие критических состояний у пациентов при отравлениях уксусной кислотой, разлитых гнояных перитонитах, панкреонекрозах различной этиологии, при обширных и глубоких термических ожогах сопровождается увеличением концентрации сывороточного железа, что обусловлено массивным ВСГ и деструкцией тканей.

Обмен железа у пациентов, находящихся в критическом состоянии, происходит с перегрузкой транспортных белков, о чем свидетельствует увеличение насыщения железом транс-

феррина. Перегрузка белков, ответственных за транспорт железа, приводит к накоплению в тканях свободного (двух-, трехвалентного) же-

леза, которое активно включается в процессы инициации ПОЛ с избыточным синтезом цитотоксичных радикалов.

Литература

1. Баркова Э. Н., Сивков О. Г., Кузнецов Э. В. и др. Ранняя диагностика эндотоксикоза и прогнозирование полиорганной недостаточности при сепсисе. В кн.: Тез. докл. 9 съезда Федерации анестезиологов и реаниматологов. 27–29 сент. 2004 г. Иркутск; 2004. 24–25.
2. Жданов Г. Г., Кулигин А. В. Некоторые аспекты интенсивной терапии коматозных состояний. Вестн. интенс. тер. 2003; 3: 40–44.
3. Келина Н. Ю., Васильков В. Г., Безручко Н. В., Шикунова Л. Г. Биохимические критерии доказательной тяжести эндотоксикоза при перитоните. В кн.: Тез. докл. 9 съезда Федерации анестезиологов и реаниматологов. 27–29 сентября 2004 г. Иркутск; 2004. 122–123.
4. Малахова М. Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации: метод. рекомендации. СПб.; 1995.
5. Васильков В. Г., Шикунова Л. Г., Келина Н. Ю., Безручко Н. В. Роль нарушений антиоксидантного статуса организма в формировании синдрома эндогенной интоксикации у больных в токсической и терминальной стадии перитонита. Анестезиология и реаниматология 2001; 6: 31–34.
6. Накашидзе И., Чиковани Т., Саникидзе Т., Бахунашвили В. Проявления оксидантного стресса и его коррекция при травматическом шоке. Анестезиология и реаниматология 2003; 5: 22–24.
7. Зинчук В. В., Ходосовский М. Н., Дрезма И. К. Кислородно-транспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при реперфузии печени. Патол. физиология и эксперим. терапия 2002; 4: 8–11.
8. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы и антиоксиданты. Вестн. РАМН 1998; 7: 43–51.
9. Жданов Г. Г., Нодель М. Л. Проблема гипоксии у реанимационных больных в свете свободнорадикальной теории. Анестезиология и реаниматология 1995; 1: 53–61.
10. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. Free Radic. Res. Commun 1990; 9 (1): 1–32.
11. Любинский О. Б., Давыдов Б. В., Васильева О. В., Климов Ю. В. Динамика показателей перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы сыворотки крови при остром деструктивном панкреатите. Вопр. мед. химии 1998; 44 (6): 565–570.
12. Шанин Ю. Н., Шанин В. Ю., Зиновьев Е. В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия поведения). СПб.: ЭЛБИ; 2003.
13. Schulz H. U., Niederau C., Klonowski-Stumpe H. Oxidative stress in acute pancreatitis. Hepatogastroenterology 1999; Sep. – Oct.: 2736–2750.
14. Sedlac J., Lindsey R. H. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmans reagent. Analyt. Biochem. 1968; 25 (2): 192–205.
15. Фархутдинов Р. Р., Лиховских В. А. Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и в медицине. Уфа; 1995.
16. Сторожук П. Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток. Вестн. интенс. тер. 2000; 3: 8–13.
17. Aruoma O. I. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen radical, superoxide, and hypochlorous acid. Free Radic. Biol. Med. 1989; 6 (6): 593–597.
18. Breaiey D., Braund M., Hargreaves J. et al. Mitochondrial inhibition is associated with the severity of human septic shock: [Intensive care society and reverse side group «State of the Art». Meeting. London. Dec. 7–8 2000]. Brit. J. Anaesth. 2001; 87 (2): 340–341.
19. Cetinkale O., Senel O., Bulan R. The effect of antioxidant therapy on cell-mediated immunity following burn in jury in an animal model. Burn 1999; 25 (2): 113–118.
20. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы. Лаб. дело 1988; 1: 16–19.

Поступила 20.09. 05