

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ АБДОМИНАЛЬНОМ СЕПСИСЕ

О. В. Юдакова², Е. В. Григорьев¹

¹ ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия», Кемерово

² Филиал ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, МУЗ «Городская клиническая больница № 1», Новокузнецк

Diagnostic and Prognostic Value of the Parameters of Lipid Peroxidation and Endogenous Intoxication in Abdominal Sepsis

O. V. Udakova², E. V. Grigoriev¹

¹ Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo

² Branch of the Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, City Clinic Hospital No. 1, Novokuznetsk

Цель работы состояла в оценке диагностической и прогностической значимости показателей липопероксидации и эндогенной интоксикации при абдоминальном сепсисе. Для достижения этой цели проведено проспективное исследование 36 больных с диагнозом: распространенный перитонит, абдоминальный сепсис. Больные были распределены на 3 группы в зависимости от клинико-лабораторной характеристики тяжести сепсиса. Группа больных с проявлениями абдоминального сепсиса без органной дисфункции характеризуется активацией перекисного окисления липидов, высокой активностью антиоксидантной защиты и умеренным уровнем маркеров эндогенной интоксикации. Группа больных с проявлениями тяжелого сепсиса и полиорганной недостаточностью характеризуется высокой степенью процессов липопероксидации, снижением активности антиоксидантов. Группа больных с септическим шоком характеризуется накоплением продуктов липопероксидации и подавлением активности ферментных антиоксидантов, высоким уровнем маркеров эндогенной интоксикации, что сопровождалось наивысшей летальностью в сравниваемых группах. *Ключевые слова:* абдоминальный сепсис, липопероксидация, эндогенная интоксикация, прогностические критерии.

The objective of the study was to assess the diagnostic and prognostic value of the parameters of lipid peroxidation and endogenous intoxication in abdominal sepsis. For this purpose, the authors conducted a prospective study of 36 patients diagnosed as having generalized peritonitis, abdominal sepsis. According to the clinical and laboratory characteristics of the severity of sepsis, the patients were divided into 3 groups. A group of patients with the manifestations of abdominal sepsis without organ dysfunction was characterized by the activation of lipid peroxidation, the high activity of antioxidant defense and the moderate level of endogenous intoxication markers. A group of patients with the manifestations of severe sepsis and multiple organ dysfunction showed high lipid peroxidation processes and lowered antioxidant activities. A group of patients with septic shock displayed accumulation of lipid peroxidation products and inhibition of activity of enzymatic antioxidants, and high levels of endogenous intoxication markers, which was followed by the highest mortality rates in the compared groups. *Key words:* abdominal sepsis, lipid peroxidation, endogenous intoxication, predictors.

В основе патогенеза наиболее тяжелых форм остро распространенного перитонита и абдоминального сепсиса лежит сложная и многообразная по своей природе эндогенная интоксикация с ее проявлениями в виде клинико-лабораторного симптомокомплекса — синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ). Вероятным фактом оптимизации диагностической и прогностической значимости компонентов СЭИ является их соотношение с клиническими характеристиками тяжести абдоминального сепсиса. Синдром эндогенной интоксикации привлекает тем фактом, что содержит определенный набор диагностических компонентов (молекулы средней массы, активности липопероксидации). Диагностические компоненты могут быть использованы в процессе диагностики сепсиса, а также в процессе проведения интенсивной терапии и выбора ее составляющих (экстракорпо-

ральная коррекция гомеостаза, выбор нутритивной поддержки и т. д.) С этой точки зрения раннее выявление СЭИ приобретает первостепенное значение [1–3].

Цель работы — оценить диагностическую и прогностическую значимость показателей липопероксидации и эндогенной интоксикации при абдоминальном сепсисе.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование 36 больных с диагнозом: распространенный перитонит, абдоминальный сепсис в 1, 2 и 3-и сутки с момента поступления больного в отделение реанимации после первой радикальной операции. Больные были распределены на 3 группы в зависимости от их клинико-лабораторной характеристики: I группа (сепсис) — средний возраст 55±8 лет и оценка по шкале APACHE II 11±5 баллов, n=12; II группа (тяжелый сепсис) — средний возраст 56±6 лет с оценкой по шкале APACHE II 21±5 баллов, что соответству-

Таблица 1

**Динамика показателей липопероксидации и эндогенной интоксикации
у больных с тяжелым сепсисом ($M \pm m$)**

Сутки	ПОЛ, ед/мл			МСМ, е. о. п.		СОД, у. е./мл Эр
	ИДС	ДК	КТ	254 нм	280 нм	
Контроль	3,4±0,4	1,8±0,2	0,8±0,2	0,25±0,01	0,28±0,01	1150±450
1	5,2±0,4*	3,4±0,4*	1,7±0,2*	0,36±0,03	0,42±0,03	2205±234*
2	3,7±0,5	2,6±0,3	1,6±0,2	0,35±0,04	0,41±0,05	1871±180
3	5,8±0,8*	3,8±0,2*	1,6±0,2	0,14±0,01	0,41±0,03	2268±347*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * — достоверность различий по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$.

Таблица 2

**Динамика показателей липопероксидации и эндогенной интоксикации
у больных с септическим шоком ($M \pm m$)**

Сутки	ПОЛ, ед/мл			МСМ, е. о. п.		СОД, у. е./мл Эр
	ИДС	ДК	КТ	254 нм	280 нм	
Контроль	3,4±0,4	1,8±0,2	0,8±0,2	0,25±0,01	0,28±0,01	1150±450
1	4,3±0,1	3,3±0,2	1,2±0,1	0,40±0,01	0,45±0,07	1670±206*
2	4,4±0,3	3,9±0,3	2,9±0,1*	0,56±0,09	0,45±0,05	1591±330
3	5,6±0,2*	4,2±0,5*	2,9±0,3*	0,96±0,04*	0,51±0,06*	1516±252

ет вероятности летального исхода 40%, $n=14$; III группа (септический шок) — средний возраст 59 ± 7 лет, оценка по АРАСНЕ II 34 ± 5 баллов, что соответствует вероятности летального исхода 70—80%, $n=10$. Контрольную группу составили 60 доноров-добровольцев, характеристики которых были приняты за норму. Показатели системного воспалительного ответа и сепсиса оценивали по критериям Bone R. C. et al. (1992). Из исследования были исключены больные старше 70 лет, а также больные с декомпенсированной соматической патологией: сердечно-сосудистой, сахарным диабетом, с неоперабельными злокачественными новообразованиями. Средний возраст больных составил 57 лет; мужчин было 62,5%, женщин — 37,5%.

Для изучения состояния процессов липопероксидации использовали метод прямой спектрофотометрии. Принцип метода заключается в выделении нативных жирных кислот с оценкой в них содержания изолированных двойных связей (ИДС) и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) из крови путем экстракции смесью равных объемов гептана и изопропанола с последующим измерением оптической плотности проб каждой фазы липидного экстракта: гептановой и изопропанольной [3, 8, 9, 12]. Состояние антиоксидантной активности оценивали по изменению активности супероксиддисмутазы (СОД). В качестве базового использовали метод, основанный на ингибировании СОД скорости аутоокисления адреналина в щелочной среде [3, 4, 9].

Уровень молекул средней массы (МСМ) в качестве маркера эндогенной интоксикации определяли скрининговым методом, основанным на прямой спектрофотометрии депротенинизированного супернатанта, полученного после осаждения белков раствором трихлоруксусной кислоты [1, 3, 6].

Для оценки уровня достоверности полученных данных использовали параметрический критерий Стьюдента с учетом нормального распределения переменных. Критический уровень значимости был принят $p < 0,05$. Использовали пакет программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Данные, отражающие относительное содержание продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах в крови доноров и больных с абдоминальным сепсисом в группах больных, разделенных по тяжести сепсиса, представлены в

табл. 1 и 2 (в таблицах представлены показатели групп, наиболее значимые по изменениям липопероксидационного статуса и показателям эндогенной интоксикации). Относительное содержание изолированных двойных связей — ИДС (длина волны спектрофотометрии E_{220}) выше в 1,6 раза по сравнению с контрольными показателями в изопропанольной фазе липидного экстракта, что соответствует данным литературы о большей растворимости в этой фазе полярных липидов (фосфолипидов), являющихся важнейшими субстратами ПОЛ, количественные и качественные изменения которых достоверно отражают состояние липидов в клеточных мембранах. В гептановой фазе относительное содержание ИДС выше по сравнению с контрольными показателями в среднем в 1,2 раза. Относительное содержание диеновых конъюгатов (ДК) гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот (E_{232}), являющихся первичными молекулярными продуктами ПОЛ, в изопропанольной фазе в 2 раза выше нормы, в гептановой фазе — в 1,5 раза. Важно отметить, что изопропанольная фаза, в отличие от гептановой, дает возможность определять оптическую плотность при 278 нм, то есть определять кетодиены и сопряженные триены (КТ), являющиеся вторичными молекулярными продуктами ПОЛ и оказывающие значимое токсическое действие и, таким образом, оценивать степень выраженности СЭИ в группах больных с различной тяжестью течения абдоминального сепсиса [12, 15]. Показатели, полученные при анализе гептановой фазы, достоверно отличались от контроля.

Таким образом, определение показателей в гептановой фазе не дает целостного представления о нарушениях процессов липопероксидации. Наиболее ценными в диагностическом отношении являются показатели изопропанольной фазы липид-

ного экстракта крови, которые и были проанализированы для изучения динамики процессов липопероксидации у больных с абдоминальным сепсисом.

У больных с абдоминальным сепсисом в 1-е сутки наблюдения на фоне резко возросшей активности СОД (в 3 раза больше нормы) наблюдается значительное, более чем в 2 раза, повышение содержания ИДС (E_{220}), ДК и КТ, а также возросший в 2 раза и более уровень МСМ, определяемых при длине волны 254 нм — фракция МСМ, обусловленная накоплением промежуточных продуктов интенсивного протеолиза (1000–2000 Д), и при 280 нм — фракция МСМ, обусловленная накоплением биологически активных веществ массой 200–5000 Д. Соотношение фракций $K_{280/254}$, в норме равное 1,3, сохраняется, что обусловлено накоплением биологически активных веществ (E_{280}), стимулирующих активацию защитно-компенсаторных механизмов и указывающих на сохранение функциональной способности почек, так как в норме до 95% МСМ удаляется путем гломерулярной фильтрации. Уже через сутки исследуемые показатели приближались к контрольным значениям. Значительное повышение содержания ИДС и показателей липопероксидации, активности СОД, уровня МСМ в 1-е сутки и снижение до нормы уже через сутки подтверждают высокую эффективность антиоксидантной защиты организма, а также отсутствие в этой стадии сепсиса тяжелых нарушений тканевого и клеточного метаболизма [5, 7].

У больных группы «тяжелый сепсис» в 1-е сутки на фоне повышенной активности СОД (в 2 раза больше нормы) наблюдается увеличение относительного содержания ИДС (E_{220}), ДК (E_{232}), КТ (E_{278}), а также уровня МСМ (E_{254} и E_{280}) в 1,4 раза. Этот показатель значительно выше контроля, но ниже показателей, полученных в группе больных «сепсис» (табл. 1). Состоятельность защитно-компенсаторных механизмов, подтверждаемая повышенной активностью СОД, возросшим уровнем МСМ с сохраненным соотношением ($K_{280/254}=1,3$), оказывается недостаточной. Санация брюшной полости и устранение очага деструкции приводили лишь к временному снижению интенсивности ПОЛ на 2-е сутки. На 3-и сутки наблюдается резкое усиление ПОЛ (E_{220}) на фоне вновь возросшей активности СОД, что обусловлено тканевой гипоксией в разгар деструктивно-воспалительного процесса. Показатель E_{278} , характеризующий относительное содержание КТ, сохраняется практически неизменным. Это, видимо, связано с прорывом токсинов в системный кровоток вследствие метаболических расстройств, приводящих к развитию СЭИ на фоне сниженной состоятельности защитно-компенсаторных механизмов [5–7, 10, 16].

Группа больных «септический шок» характеризуется накоплением продуктов липопероксида-

ции (особенно вторичных — КТ при длине волны E_{278}) с прогрессирующим снижением активности СОД, возрастанием уровня МСМ с измененным соотношением двух определяемых фракций. При анализе данных изменений определяется, что естественные защитные механизмы антиоксидантной системы еще сохраняются в 1-е сутки терапии, однако ко 2-м и 3-м суткам полностью истощаются вследствие смешанной гипоксии, приводящей к глубоким нарушениям тканевого метаболизма, тотальной ишемии и гипоперфузии вследствие септического шока с формированием полиорганной недостаточности. Ведущим фактором развития этого патологического процесса является эндотоксикоз, степень выраженности которого подтверждается интенсивностью липопероксидации с накоплением токсичных продуктов, в меньшей степени ДК — продуктов начального этапа и наименее стойких, в большей степени КТ (E_{278}) — конечных продуктов процесса, свидетельствующих о глубине и степени выраженности СЭИ; подавлением антиоксидантной активности, изменением соотношения фракций МСМ и снижением коэффициента распределения $K_{280/234}$ до 0,5. Согласно данным литературы, совокупность процессов эндотоксикоза и ПОН способствует прогрессированию абдоминального сепсиса (снижение коэффициента $K_{280/254}$ до 0,5) вследствие накопления токсических метаболитов в системном кровотоке в результате несостоятельности фильтрационной способности почек [5, 13].

Выводы

1. При определении показателей липопероксидации из двух фаз — гептановой и изопропанольной — диагностически значимыми являются показатели изопропанольной фазы липидного экстракта крови.

2. Группа больных с клинико-лабораторными проявлениями абдоминального сепсиса характеризуется активацией перекисного окисления липидов, высокой активностью супероксиддисмутазы, повышением уровня молекул средней массы в 1-е сутки и снижением до нормальных показателей уже через сутки после начала интенсивной терапии. Летальность в данной группе составила 7,2%.

3. Группа больных с проявлениями тяжелого сепсиса (источник инфекции в сочетании с синдромом системного воспаления и органной недостаточностью) характеризуется высокой степенью интенсивности процессов липопероксидации, снижением активности ферментных антиоксидантов с сохранением высокого уровня МСМ при $K_{280/254}=1,3$. Это объясняет субкомпенсированную защитную реакцию организма. Летальность в группе составила 25%.

4. Группа больных с септическим шоком характеризуется накоплением продуктов липопероксидации (особенно вторичных), подавлением активности СОД, высоким уровнем МСМ, снижением коэффициента распределения между определяемыми фракциями МСМ до 0,5. Летальность в группе больных — 54%.

5. Прогностически неблагоприятными показателями являются увеличение показателей вторичных продуктов липопероксидации, подавления активности СОД и увеличение содержания молекул средней массы во фракции 234 нм.

Литература

1. Ерюхин И. А., Белый В. Я., Вагнер В. К. Воспаление как общебиологическая реакция: на модели острого перитонита. Л.: Наука; 1989.
2. Гельфанд Б. Р., Гологорский В. А., Гельфанд Е. Б. Стратегия и тактика антибактериальной терапии абдоминального сепсиса. Анестезиология и реаниматология 1998; 2: 23–29.
3. Ерюхин И. А., Шашков Б. В. Эндотоксикоз в хирургической клинике. СПб.; 1995.
4. Габриэлян Н. И., Левицкий Э. Р., Щербанева О. И. Гипотеза средних молекул в практике клинической нефрологии. Терпевт. арх. 1983; 6: 76–79.
5. Мартов Ю. Б., Подолинский С. Г., Кирковский В. В. Распространенный перитонит. М.: Триада; 1998.
6. Голиков П. П. Биохимические исследования в экстренной диагностике неотложных состояний. Лабораторные и инструментальные методы диагностики при неотложных состояниях. СПб.; 1987.
7. Гусев В. А., Панченко Л. Ф. Супероксидный радикал и супероксиддисмутаза в свободнорадикальной теории старения. Вопр. мед. химии 1982; 6: 8–23.
8. Ушкалова В. Н., Иоанидис Н. В., Кадочникова Г. Д. Контроль перекисного окисления липидов. Новосибирск; 1993. 73–87.
9. Радбиль О. С. Свободные радикалы и заболевания органов пищеварения. Клинич. медицина 1989; 3: 17–21.
10. Goode H. F., Webster N. R. Free radicals and antioxidants in sepsis. Crit. Care Med. 1993; 21 (11): 1770–1776.
11. Lovat R., Preiser J. -C. Antioxidant therapy in intensive care. Cur. Opinion in Crit. Care 2003; 9 (4): 266–270.
12. Lum H., Roebuck K. A. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2001; 280: 719–741.
13. Novelli G. P. Role of free radicals in septic shock. J. Physiol. Pharmacol. 1997; 48: 517–527.
14. Zimmerman J. J. Defining the role of oxyradicals in the pathogenesis of sepsis. Crit. Care Med. 1995; 23 (3): 616–617.
15. Roth E., Manhart N., Wessner B. Assessing the antioxidative status in critically ill patients. Cur. Opinion in Clin. Nutrition & Metabolic Care 2004; 7 (2): 161–168.
16. Verhaar M. C., Westerweel P. E., van Zonneveld A. J., Rabelink T. J. Free radical production by dysfunctional eNOS. Heart 2004; 90: 494–495.
17. Xu D. Z., Lu Q., Kubicka R., Deitch E. A. The effect of hypoxia/reoxygenation on the cellular function of intestinal epithelial cells. J. Trauma 1999; 46 (2): 280–285.

Поступила 23.05.06