

## РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА КАК КОМПОНЕНТА РЕПЕРФУЗИОННОГО СИНДРОМА ПРИ ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Магомедов М.М., Бациков Х.А., Иманалиев М.Р., Дамадаев Д.М.

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет», Махачкала, e-mail: hairula\_dgma@mail.ru

Изучение окислительного дистресса в динамике и его роль в развитии синдрома ишемии-реперфузии при острой кишечной непроходимости. Настоящее исследование основано на анализе результатов клинического наблюдения и обследования 88 пациентов с острой кишечной непроходимостью. Для оценки степени дисбаланса между окислительными повреждениями и работой антиоксидантных систем организма в исследовании был использован антиоксидантный индекс (АОИ), учитывающий активность эритроцитарных ферментов и степень перекисного окисления липидов в плазме крови. Динамика тяжести состояния пациентов в послеоперационном периоде зависит от реперфузионных осложнений. Показатели интегрального антиоксидантного индекса при острой кишечной непроходимости отражает состояние окислительного стресса, что подтверждается отрицательным его значением. Показатели антиоксидантного индекса после операции у пациентов ОКН, осложненный реперфузионным синдромом было достоверно ниже в первые 3–6 ч, 12–24 ч и на 6 сутки ( $p < 0,05$ ), чем при отсутствии реперфузионного синдрома. Показатели антиоксидантного индекса являются информативным прогностическим критерием развития реперфузионного синдрома в раннем послеоперационном периоде у пациентов с острой кишечной непроходимостью.

Ключевые слова: окислительный стресс, реперфузионный синдром, острая кишечная непроходимость.

## OXIDATIVE STRESS AS A COMPONENT OF REPERFUSION INJURY ASSOCIATED WITH ACUTE INTESTINAL OBSTRUCTION

Magomedov M.M., Batsikov H.A., Imanaliev M.R., Damadaev D.M.

Daigestan State Medical University, Makhachkala, e-mail: hairula\_dgma@mail.ru

Follow-up study of oxidative distress over time and its role in the development of ischemia-reperfusion injury associated with acute intestinal obstruction. This study is based on analysis of results of clinical monitoring and examination of 88 patients with acute intestinal obstruction. Antioxidant activity index (AAI) was used in the study to evaluate a degree of imbalance between oxidative damages and antioxidant body system activity (considering erythrocytic enzyme activity and degree of lipid peroxidation in blood plasma). Progression of severity of patients' status during postoperative period depends on reperfusion complications. In the setting of acute intestinal obstruction, integral antioxidant activity index represents oxidative stress that is supported by its negative value. Antioxidant activity index values (after a surgery in patients with acute intestinal obstruction associated with reperfusion injury) were significantly decreased within the first 3–6 h, 12–24 h and on the 6<sup>th</sup> day ( $p < 0,05$ ) as compared to the absence of reperfusion injury. Antioxidant activity index is informative prognostic index of reperfusion injury development in patients with acute intestinal obstruction within early postoperative period.

Keywords: oxidative stress, reperfusion injury, acute intestinal obstruction.

Проблема лечения острой кишечной непроходимости остается одной из наиболее актуальных проблем в абдоминальной хирургии. Частота острой кишечной непроходимости (ОКН) не имеет тенденции к уменьшению, достигает 9,4–27,1 % в экстренной хирургии от всех хирургических заболеваний [2]. Уровень летальности от кишечной непроходимости составляет 18,9–19,8 %, а с развитием послеоперационных осложнений (13,2–79 %) [2,7]. Ишемия реперфузия тонкого кишечника – частые осложнения такой экстремальной патологии, как обтурационная и странгуляционная кишечная непроходимость [7, 8].

Мезентериальная ишемия-реперфузия является серьезным осложнением шока. Очень важным является исход ликвидации кишечной непроходимости и имеющие нарушения процессов микроциркуляции с развитием в последующем гипоксии и всасыванием патологических микробов через стенку кишки, что ведет к развитию синдрома системной воспалительной реакции. Синдром кишечной недостаточности (СКН) развивается при большинстве острых хирургических заболеваний и является важной составляющей патогенеза острой кишечной непроходимости и перитонита [5, 10, 11]. Прогрессирование патофизиологических процессов при СКН во многом определяется ишемией кишечной стенки и активацией свободнорадикальных процессов [4, 6]. Острая кишечная непроходимость сопровождается гипоксией с последующей реоксигенацией, что сопровождается существенными изменениями метаболизма клеток, развитием окислительного стресса, приводящего к нарушениям функции органов и тканей. Развитие окислительного дистресса происходит на фоне недостаточности ферментной и неферментной антиоксидантных систем [6]. При критических состояниях, таких как перитонит, синдром системной воспалительной реакции с органной недостаточностью, сепсис, повышенный уровень окислительного дистресса или пониженный антиоксидантный статус свидетельствуют о необходимости прогноза. Особенно у больных после ишемии – реперфузионного синдрома необходима количественная оценка окислительного дистресса, с одной стороны, определить изменения в накоплении продуктов окисления, а с другой, оценить изменения активности антиоксидантных ферментов. При повышенном образовании активных форм кислорода (АФК) происходит значительная активация свободнорадикальных процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4]. При количественной оценке ПОЛ наиболее часто используют такие продукты, как диеновые каньюгаты (ДК), а также один из его конечных продуктов – малоновый диальдегид (МДА). Очень важную роль в поддержании редокс-баланса в организме играет ферментативная антиоксидантная система эритроцитов, которая первой сталкивается с окислительным дистрессом. Основными компонентами этой системы являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КТ), глутатионпероксидаза (ГТП) и глутатионредуктаза (ГТР).

**Цель.** Изучение окислительного дистресса в динамике и его роль в развитии синдрома ишемии-реперфузии при острой кишечной непроходимости.

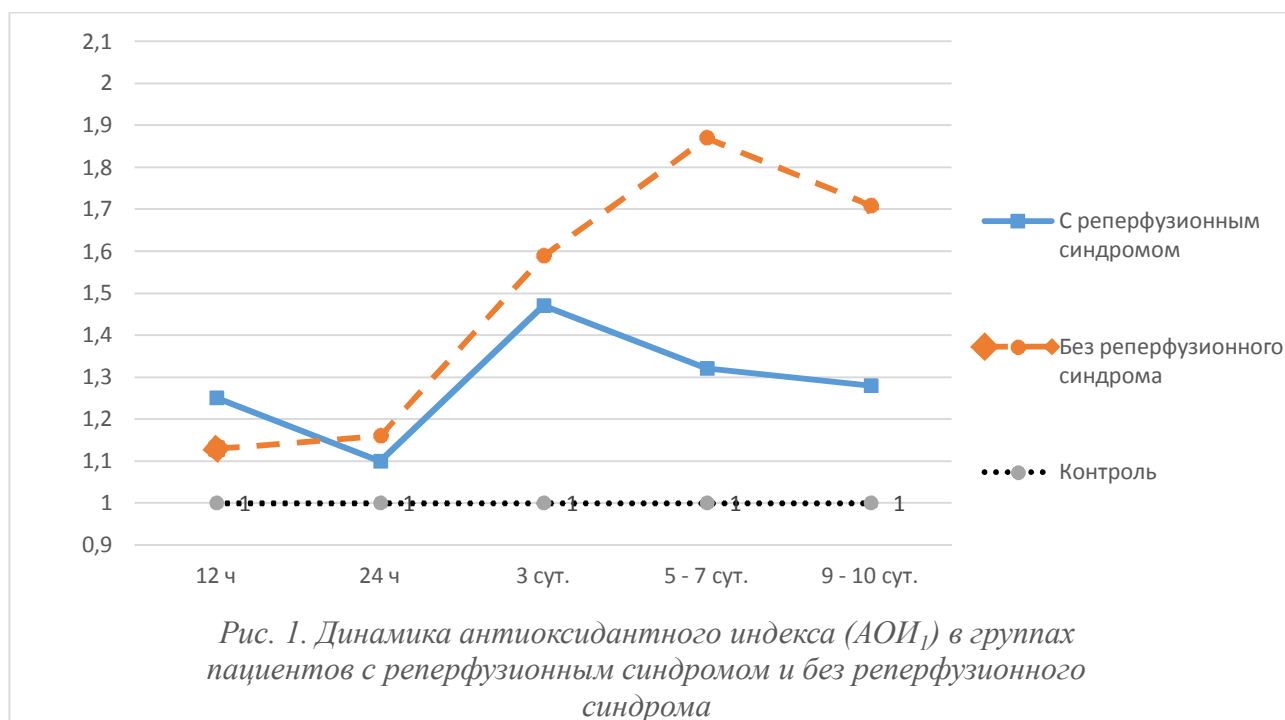
**Материалы и методы.** В данную работу были включены результаты клинического наблюдения и обследования 88 пациентов, оперированных в 2010–2015 гг. по поводу острой кишечной непроходимости в Республиканском центре экстренной медицинской помощи г. Махачкала и Республиканской межрайонной многопрофильной больнице. Мужчин было 40, женщин 48. Возраст пациентов от 18 до 80 лет. Средний возраст составил  $49,41 \pm 3,86$ .

Операции выполнялись при следующих видах патологии: странгуляционная кишечная непроходимость – 65, спаечная кишечная непроходимость – 15, обтурационная кишечная непроходимость – 8. У всех больных на момент поступления, а также на 1, 3, 5, 7 и 10-е сутки после операции были изучены лейкоцитарный индекс интоксикации по Каль – Калифу (ЛИИ). Содержание диеновых конъюгатов в плазме (ДКпл) оценивали по методу Гаврилова В.Б. с соавт. Концентрацию малонового диальдегида в плазме (МДАпл) определяли по методу М. Mihara (1990), в эритроцитах (МДАэр) оценивали методом L.Ernster. [9]. Содержание диеновых конъюгатов в эритроцитах (ДКэр) проводили с помощью метода Placer Z.[11]. В эритроцитах определяли активность следующих ферментов: глутатионредуктазы (ГТР), используя метод Tilbotsen J. A. [12], глутатионпероксидазы (ГТП) с помощью метода Millis G.[13], каталазы (КТ) по методу N. Oshino [15], супероксиддисмутазы (СОД) с помощью метода M. Nishikimi [14].

Для оценки антиоксидантного статуса использовали антиоксидантный индекс (АОИ<sub>1</sub>) – который оценивали как среднее арифметическое отношений показателей ПОЛ (содержание ДК и МДА в плазме и эритроцитах) к среднему значению этих показателей у доноров, принятое за 1.  $AOI_1 = (DK_{пл}/DK_{плN} + DK_{эр}/DK_{эрN} + MDA_{пл}/MDA_{плN} + MDA_{эр}/MDA_{эрN})/4$ . Интегральный индекс ферментативной антиоксидантной защиты (антиоксидантный индекс – 2, АОИ<sub>2</sub>) вычисляли как среднее арифметическое отношение активностей антиоксидантных ферментов эритроцитов (СОД, КТ, ГПТ и ГТР), принятые за 1 у доноров:  $AOI_2 = (ГТП/ГТП_N + ГТР/ГТР_N + СОД/СОД_N + КТ/КТ_N)/4$ . Показатели с «N» в знаменателе – значения в группе доноров в количестве n = 18 в возрасте от 20 до 48 лет принятое за норму. Разность этих двух факторов (АОИ = АОИ<sub>2</sub> – АОИ<sub>1</sub>) было предложено рассматривать как интегральный показатель, отражающий общий антиоксидантный статус [4]. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ДГМА МЗ РФ. Исследование было выполнено в соответствии с национальным стандартом Российской Федерации (ГОСТ Р52379-2005 «Надлежащая клиническая практика»). До включения в исследование у всех пациентов и доноров было получено добровольное письменное информированное согласие. Полученные результаты обработали статистически с использованием программ «Statistica 6.0» и «Statsoft». В работе приведены значения средней (M), (±) m (ошибки средней) и объем выборки (n). При сравнении данных после проверки характера распределения использовали критерий  $\chi^2$  и t – критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при p < 0,05.

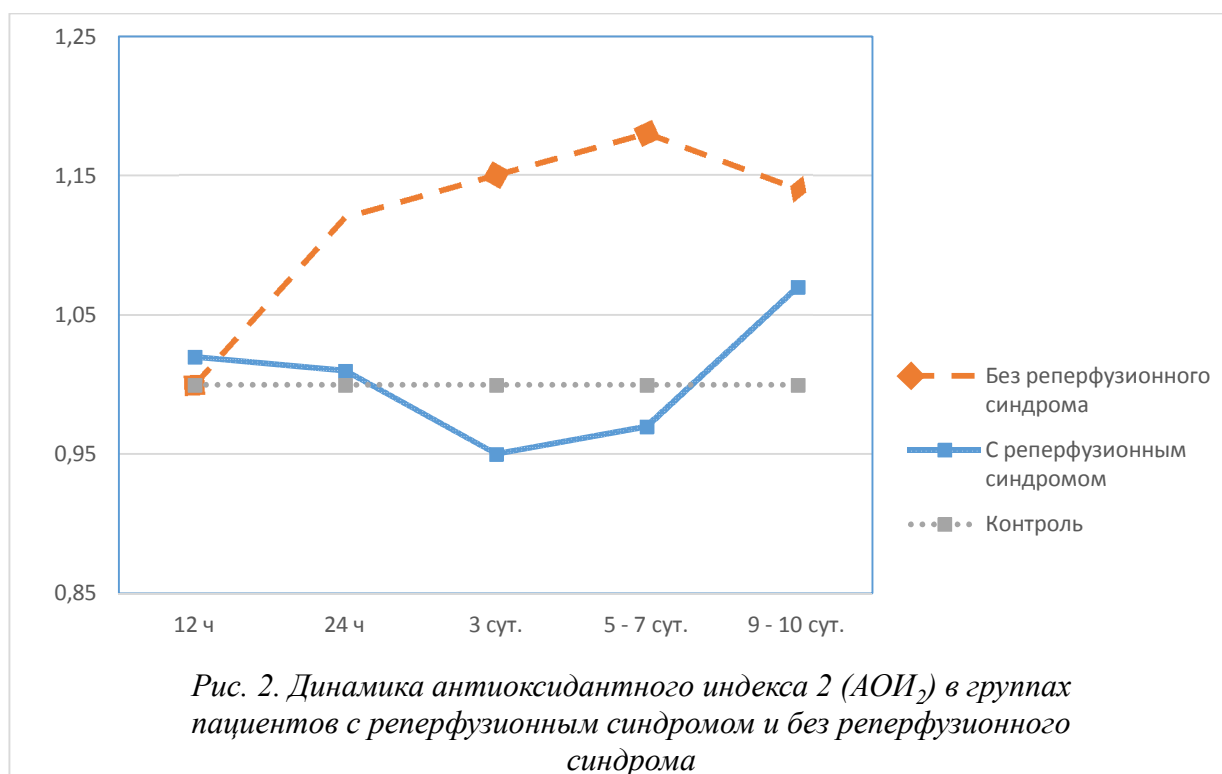
**Результаты и их обсуждение.** Динамика частного антиоксидантного индекса (АОИ<sub>1</sub>) у пациентов в группе с развившимися реперфузионными осложнениями, и группа без реперфузионных осложнений представлена на (рис. 1). Достоверные различия (p < 0,05) между группами отмечались лишь первые 6–12 часов после развития реперфузионных

осложнений, при этом в группе с реперфузионным синдромом обнаружены более высокие уровни продуктов ПОЛ. Исследование динамики индекса АОИ<sub>1</sub> установили, что минимальные отклонения наблюдались в первые 6–12 часов, а максимальные – на 4–6 сутки, при этом на 3 и 5–7-е сутки выявили достоверные различия со значениями в группе контроля. На первые сутки в обеих группах наблюдали некоторое снижение уровня метаболитов цепи перекисного окисления липидов. Динамика индекса ферментативной антиоксидантной защиты (АОИ<sub>2</sub>) в группах острой кишечной непроходимости с развившимся реперфузионным осложнением и без реперфузионных осложнений представлены на (рис. 2).



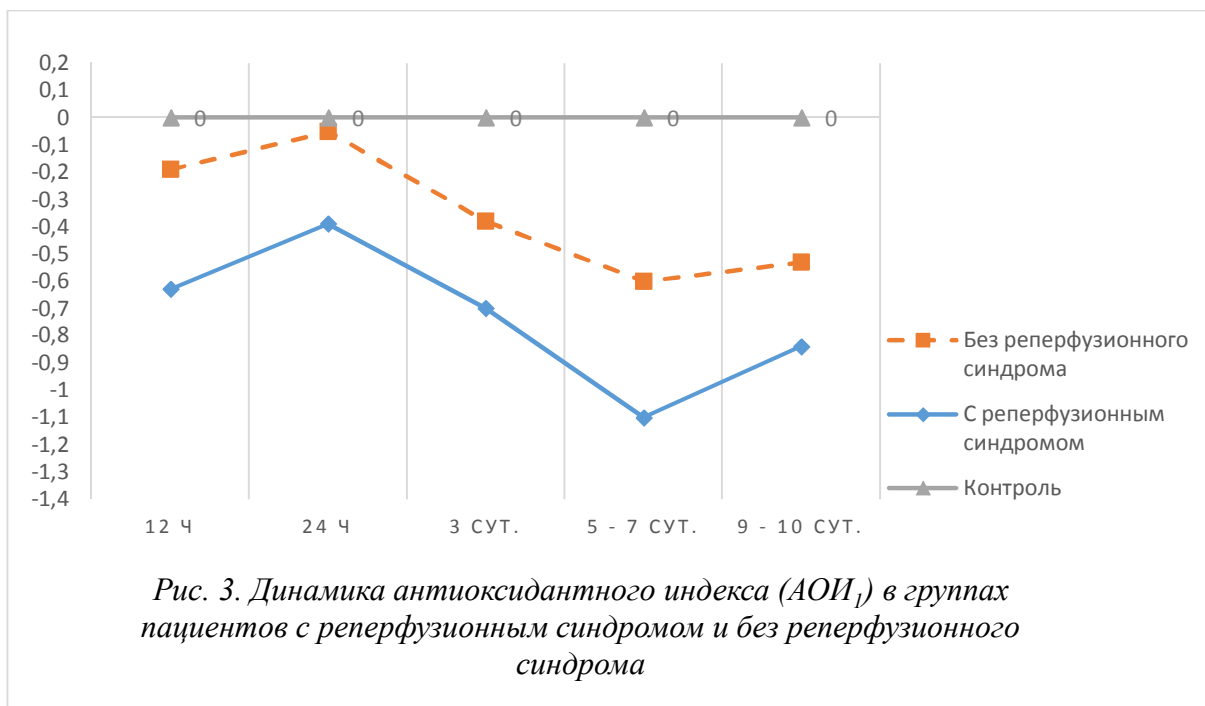
На оси ординат указаны относительные единицы АОИ<sub>1</sub>. По оси абсцисс время после операции. Достоверно при сравнении между группами ( $p < 0,05$ ); достоверно по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

Как следует из данных, если в группе реперфузионных осложнений в первые 3 – 6 часов отмечалось незначительное повышение уровня АОИ<sub>2</sub>, по сравнению со значениями в контрольной группе (1,0), то после первых суток начиналось незначительное, но достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение уровня АОИ<sub>2</sub> до (0,93), который только на 9 сутки возвращался к пределам нормы после проведенной лекарственной коррекции.



На оси ординат указаны относительные единицы АОИ<sub>2</sub>. По оси абсцисс время после операции. Достоверно при сравнении между группами ( $p < 0,05$ ); достоверно по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

В группе пациентов без последствия реперфузионного синдрома величина АОИ<sub>2</sub> прогрессивно повышалась и достигала максимальных значений – 1,20 на 8 сутки и к 9 – 11 суткам снижалась до 1,13, оставалась выше нормы ( $p < 0,01$ ). Динамика индекса, отражающего общий антиоксидантный статус (АОИ) представлена на (рис. 3). Динамика показателей интегрального антиоксидантного индекса (АОИ) с реперфузионным синдромом и без реперфузионного синдрома острой кишечной непроходимости отражают состояние окислительного стресса, что подтверждают отрицательные значения АОИ при нормальном значении равном нулю. Однако при практически параллельном характере изменения АОИ после операции у пациентов острой кишечной непроходимости, осложненной реперфузионным синдромом, значения индекса были достоверно ниже в первые 3–6 часов, 12–24 часов и на 6-е сутки ( $p < 0,05$ ), чем при отсутствии реперфузионного синдрома. На 3–5 сутки после развития реперфузионного синдрома амплитуда сдвига индекса в отрицательную сторону составляла от 30 до 60 % (рис. 3).



На оси ординат указаны относительные единицы АОИ. По оси абсцисс время после операции. Достоверно при сравнении между группами ( $p < 0,05$ ); достоверно по отношению к контрольной выборке ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в состоянии антиоксидантной системы пациентов можно отметить два критических периода, связанных с усилением окислительного стресса первые 6–12 часов после операции и 5–7 сутки, причем при развитии несостоятельности анастомоза с осложнением перитонита резко возрастает окислительный стресс. С целью анализа прогностической ценности АОИ в развитии после операции реперфузионных осложнений у пациентов были построены ROC-кривые для уровня АОИ, измененного в разные временные промежутки с момента операции. При этом прогностический эффект АОИ оказался максимальным в интервале 6–12 часов, исходя из величины значения площади под ROC-кривой. Значение площади составляло 0,870, что является прогностически плохим показателем. В динамике ROC-анализ в интервале 12–24 часа показал, что АОИ прогнозирует развитие первых признаков реперфузионного синдрома у пациентов острой странгуляционной кишечной непроходимости. В группе пациентов с развитием реперфузионного синдрома, в отличие от группы без реперфузионного синдрома, отмечали достоверное ( $p < 0,05$ ) угнетение антиоксидантной системы в первые 6–12 часов и 3–5 сутки, что указывает на его возможную раннюю прогностическую значимость в развитии реперфузионных осложнений в первые 6–12 часов. При изучении длительности предоперационного периода установлено, что только 28,4 % больных оперированы в первые сутки с уровнем летальности 4 %. В сроки от 2 до 3 суток с момента заболевания оперированы 22,7 % пациентов с летальностью 15,0 %. Пациенты оперированы в сроки 4 и более суток с максимальной летальностью – 55–60 % (таблица). Установлено, что

минимальный уровень послеоперационных осложнений 5,6 % отмечался при длительности предоперационного периода до 6–12 часов без прогностических признаков реперфузионного синдрома. В сроки более 12 часов с проявлением прогностических признаков реперфузионного синдрома более достоверно выше и составляет от 23,6 % до 35,2 % летальности. Проведенный анализ динамики тяжести состояния пациентов в послеоперационном периоде зависит от реперфузионных осложнений с учетом критерия состояния при поступлении 6–12 ч и на 5–7 сутки после операции. Это время является наиболее критическим для пациентов после наложения анастомозов. У пациентов, которым наложен анастомоз, несмотря на исходно более низкий уровень SAPS (2.98), к пятым суткам послеоперационного периода наблюдалось ухудшение показателя на 0,25 – у 4-х пациентов, и у них отмечался резко выраженный окислительный стресс. В то же время как у пациентов, не имеющих осложнения реперфузионного синдрома, отмечалось улучшения показателя SAPS на 0,85. Данные различия статистически достоверны (Mann – WhitneyU тест  $p = 0,00003$ ).

#### Летальность при различной длительности предоперационного периода

Длительность предоперационного периода.	Количество пациентов	Тяжесть по шкале SAPS	Умерло	Летальность
0 – 12 часов	18	3,12	-	-
13 – 24 часа	25	5,52	1	4 %
25 – 48 часа	20	6,23	3	15 %
49 – 72 часа	15	6,56	5	33,3 %
73 – 96 часа	10	6,85	6	60 %*
Всего	88		15	17 %

\* –  $p < 0.05$  по сравнению с длительностью предоперационного периода до 12 часов.

**Заключение.** Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что улучшение кровотока и доставка кислорода к ишемизированным тканям кишечника после устранения кишечной непроходимости сопровождается развитием относительной гипероксии в кишечнике, где процессы гиперпероксидации липидов превалируют над активностью антиоксидантной системы. Эти факторы приводят к дальнейшей интенсификации ПОЛ и ослаблению АОС. Ухудшение микроциркуляции, увеличение кислородного дефицита и проявление системной воспалительной реакции характерны для развития реперфузионного синдрома. Так, наиболее интенсивное нарушение баланса между накоплением ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов выявлено у пациентов острой

кишечной непроходимости, у которых во время операции была обнаружена странгуляционная кишечная непроходимость с дальнейшим развитием реперфузионного синдрома. Таким образом, индекс АОИ может быть включен в комплекс ранних прогностических маркеров развития реперфузионных осложнений у пациентов острой кишечной непроходимости.

### Список литературы

1. Воробей А.В., Шулейко А.Ч., Хулуп Г.Я. Оценка факторов, влияющих на результаты резекций тонкой кишки, у больных с тонкокишечной непроходимостью // Новости хирургии. – 2008. – №16 (2). – С. 22–33.
2. Ермолов А.С., Турко А.П. [и др.] Основные направления снижения послеоперационной летальности при острой кишечной непроходимости // Московский медицинский журнал. – 2000. – № (3). – С. 3–7.
3. Ерюхин И.А. Хирургические инфекции: руководство / под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. – СПб.: Питер, 2003. – 864 с.
4. Кашибадзе К.Н., Накашидзе И.М. Оксидантно-антиоксидантные процессы в тканях при ишемическом и реперфузионном повреждении тонкого кишечника // Пат. физиология и эксперим. терапия. – 2009. – № (2). – С. 19–22.
5. Косинец В.А., Самсонова И.В., Рыжковская Е.Л. Структурные изменения в тонкой кишке при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Новости хирургии. – 2011. – № 19 (5). – С. 9–16.
6. Мальцев Г.Ю., Тышко Н.В. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Гигиена и санитария. – 2002. – № (2). – С. 69–72.
7. Магомедов М.М., Алигаджиев Д.М. Острая кишечная непроходимость. – Махачкала: Лотос, 2007. – 260 с.
8. Пермяков П.Е., Жидовинов А.А., Зурнаджянц В.А., Чупров М.П., Уханов Б.Ю. Патогенетические аспекты синдрома ишемии реперфузии в прогрессировании системного воспаления и эндотоксикоза при кишечной непроходимости // Вестник ВолГМУ. – 2010. – № 33 (1). – С. 11–14.
9. Ernster L., Nordenbrand K. Microsomal lipid peroxidation. Meth. Enzymol. 1967. 10. 574–580.
10. Keel M., Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. Injury. 2005. 36 (6). 691–709.
11. Placer Z. Lipoperoxidationsysteme in biologischen material //Nahrung. 1968. Bd. 12.S.



679–684.

12. Tilbotsen J.A., Sauberlich H.S. Effect of riboflavin depletion and repletion on the erythrocyte glutathione reductase in the rat. *J. Nutr.* 1971. 101 (11). 1459–1466.
13. Mills G.G. The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 1959.234 (3). 502–506.
14. Nishikimi M., Appaji N., Yagi K. The occurrence of superoxide anion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972. 46 (2):849–854.
15. Oshino N., Chance B., Sies H., Bücher T. The role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors. *Arch BiochemBiophys.* 1973 Jan.; 154 (1):117–131.