Исследование напряженности окислительного стресса при различных методах общей анестезии у хирургических больных с абдоминальной патологией

И.Н. Пасечник, А.А. Мещеряков

ФГУ «Клиническая больница» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва
ФГУ «Учебный научный медицинский центр» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

Резюме

Цель исследования: изучение влияния различных методов общей анестезии на показатели окислительного стресса (ОС) у хирургических больных с абдоминальной патологией.

Материалы и методы: У 88 больных (4 группы по 22 пациента в зависимости от метода общей анестезии), которым выполнили плановые оперативные вмешательства по поводу хронического калькулезного холецистита (вне обострения), паховых, пупочных и послеоперационных грыж изучили влияние различных методов общей анестезии на показатели ОС.

Результаты: Установили, что у хирургических больных под влиянием разных методов общей анестезии регистрируется окислительное повреждение белков и липидов на фоне снижение активности ферментов антиоксидантной защиты. Представленные результаты свидетельствуют, что от метода анестезиологического обеспечения зависит характер изменений показателей ОС. Окислительную модификацию белков регистрировали значительно чаще, чем пероксидацию липидов. Применение сбалансированной анестезии на основе пропофола, оказывает минимальное влияние на показатели ОС в сравнении с нейролептаналгезией, атаралгезией и наркозом севофлураном.

Ключевые слова: свободно-радикальное окисление, окислительная модификация, карбонильные, сульфгидрильные, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза.

Assessment of oxidation stress intensity in different methods of narcosis for surgical patients with abdominal pathology

I.N. Pasechnic, A.A. Mescheriakov

"Clinical hospital" of the Department of affairs management of President of Russian Federation, Moscow

"Training scientific medical center" of the Department of affairs management of President of Russian Federation, Moscow

Summary

The influence of different narcosis methods to the oxidation stress (OS) and antioxidant system (AOS) indexes were explored on 88 patients, who had been operated because of the abdominal pathology. It was registered, that because of the influence of general anesthesia the surgical patients have oxidation disorder of proteins and lipids with the falling of antioxidant protection enzymes activity. Using of propofol balanced anesthesia minimum influences the OS and AOS indexes comparing with the neuroleptanalgesia, ataralgezia and sevofluran narcosis.

Key words: free-radical oxidation, oxidizing modification, carbonyl, sulfhydryl, catalase, superoxidedismutase, glutathionperoxidase.

Координаты для связи с автором: 107143, г. Москва, ул. Лосиноостровская, 45

В настоящее время окислительный стресс (ОС) рассматривается как неотъемлемый компонент патогенеза различных хирургических заболеваний. В условиях ОС происходит неконтролируемая генерация активированных форм кислорода (АФК), способных нарушать нормальное функционирование жизненно важных структур клетки. В зависимости от выраженности ОС возникает дисфункция клеток или их гибель. Клинически это проявляется различной симптоматикой: от незначительной транзиторной недостаточности работы органов, до выраженной органной дисфункции [1, 2].

В клинической практике врачам анестезиологам-реаниматологам часто приходится иметь дело с больными, у которых уже имеются расстройства процессов регуляции свободно-радикального окисления, которые затем усугубляются вследствие операционной агрессии и введения средств для наркоза. Препараты для общей анестезии могут обладать как антиоксидантными, так и прооксидантными свойствами [3, 4, 5]. В настоящий момент нет единого суждения о влиянии анестетиков на процессы свободно-радикального окисления, а сведения, приводимые в литературе, весьма противоречивы.

Большинство работ, касающихся проблем ОС у хирургических больных, посвящено влиянию АФК на липиды в процессах перекисного окисления (ПОЛ) и состоянию антиоксидантной системы (АОС). Токсичность АФК и вред избыточной активации ПОЛ не вызывают сомнения. Исследований, посвященных воздействию ОС на белки, крайне мало, а сведения о таком влиянии противоречивы и не систематизированы. Учитывая большую и очень разнообразную функциональную нагрузку белков в тканях, их окислительная модификация может в сравнении с липидами, приводить к более серьезным последствиям для организма больного.

В послеоперационном периоде у пациентов с абдоминальной хирургической патологией наблюдают различные осложнения: пневмонии, нагноение операционной раны, нарушения со стороны ЦНС и т.д. [6, 7,8].

В связи с вышеизложенным, целью нашей работы было: изучение влияния различных методов общей анестезии на показатели ОС у хирургических больных с абдоминальной патологией.

Материалы и методы

У 88 больных, которым выполнили плановые оперативные вмешательства по поводу хронического калькулезного холецистита (вне обострения), паховых, пупочных и послеоперационных грыж изучили влияние различных методов общей анестезии на показатели ОС и АОС. Степень операционно-анестезиологического риска по классификации МНОАР не превышала 3 баллов. Продолжительность операций составила 55–85 минут.

В зависимости от метода анестезии больных разделили

на 4 группы. Премедикация во всех группах была одинаковой и включала 1 мг феназепама перорально на ночь накануне операции. За 40 минут до операции внутримышечно назначали 1 мг атропина, 20 мг промедола, 10 мг димедрола.

Пациенты 1-й группы были оперированы в условиях нейролептанальгезии (НЛА), 2-й группы – атараглезии, 3-й группы – сбалансированной внутривенной анестезии на основе пропофола, у больных 4-й группы применили севофлуран.

У больных 1-й группы (n=22) индукцию осуществляли дроперидолом в дозе 0,25 мг/кг и фентанилом в дозе 0,005 мг/кг. Поддержание анестезии проводили дробным введением фентанила по 0,1 мг и дроперидола по 2,5–5 мг через 20–30 мин. Во всех группах во время вводного наркоза проводили прекураризацию, для чего вводили 10 мг тракриума. Интубацию трахеи выполняли после введения сукцинилхолина в дозе 1,5 мг/кг. Во время основной анестезии миоплегию осуществляли дробным введением тракриума по 0,2 мг/кг каждые 25 мин. Искусственную вентиляцию легких во время анестезии проводили наркозным аппаратом Drager Fabius с использованием закисно-кислородной смеси 2:1 в режиме нормовенти-ляции (et CO_2=34–36 мм рт.ст.). Во второй группе (n=22) для вводного наркоза использовали дормикум в дозе 0,3 мг/кг и фентанил в дозе 0,003 мг/кг. Основной наркоз осуществляли дормикумом (0,1–0,2 мг/кг/ч) и фентанилом по 0,1 мг каждые 15–20 мин. В третьей группе (n=22) индукцию проводили пропофолом (2,0 мг/кг) и фентанилом (0,003 мг/кг), поддержание анестезии – болюсным введением пропофола по 25–50 мг каждые 20 мин и фентанилом (0,1 мг каждые 15–20 мин). В четвертой группе (n=22) вводный наркоз не отличался от второй группы, поддержание анестезии осуществляли ингаляцией севофлурана (1,5–3,0 об%) и внутривенным введением фентанила по 0,1 мг каждые 30 мин.

Пробы крови брали за 2 часа до операции (I этап), в наиболее травматичный момент хирургического вмешательства (II этап), через 2 часа после окончания общей анестезии и операции (III этап) и на 1-е сутки после операции (IV этап).

В качестве показателя, характеризующего интенсивность процессов ПОЛ, определяли содержание малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой [9]. Окислительную модификацию белков оценивали по двум параметрам: содержанию белковых сульфгидрильных групп (БСГ) и белковых карбонильных групп (БКГ). Определение БСГ проводили по методу Эллмана с помощью 5,5/-дитиобис (2-нитробензойной кислоты) [10]. Содержание БКГ изучали по ранее опубликованной методике [11]. О состоянии антиоксидантной системы (АОС) судили на основании активности в эритроцитах каталазы (КТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП).

Статистическую обработку данных проводили на компьютере IBM PC с помощью стандартных статистических программ Microsoft Excel. Величины средних значений признаков указаны в границах M±d. Степень изменения признака считали достоверной при величине возможной ошибки (p) меньше 0,05.

Результаты исследований и их обсуждение

До операции (I этап) у всех обследованных больных различий в показателях ОС и АОС не обнаружили. Это объясняется отсутствием воспалительных и других изменений, способных существенным образом влиять на генерацию АФК с последующим повреждением белков, липидов и на активность ферментов антиоксидантной защиты. В таблице 1 представлены данные об изменении исследуемых параметров в условиях НЛА (1-я группа). На II этапе исследования у больных 1-й группы обнаружили повышение содержания БКГ до 1,08±0,22 нмоль/мг (н=0,72±0,16 нмоль/мг, p<0,05), что свидетельствовало о возникновении окислительной модификации белков, уровень МДА и БСГ не менялся. После окончания операции (III этап) уровень БКГ оставался высоким, активность ферментов АОС не менялась. На 1-е сутки после операции (IV этап) содержание БКГ снижалось, но оставалось выше нормальных значений. Остальные показатели не отличались он физиологической нормы.

Таким образом, в процессе исследования выявили, что в наиболее травматичный момент операции регистрируется окислительное повреждение протеинов, проявляющееся увеличением содержания карбонильных групп в белках. Уровень МДА, отражающий процессы ПОЛ, на всем протяжении исследования не менялся. Основное количество научных публикаций посвящено изучению влияния анестетиков на пероксидацию липидов [12, 13]. Вместе с тем нами установлено, что на начальных этапах формирования ОС в первую очередь регистрируется окислительное повреждение белков. Теоретическим объяснением наших результатов могут служить сведения о структурных особенностях клеточных мембран. Доказано, что большинство клеточных мембран содержит не только липиды, но и белки. Между ними постоянно происходит тесное взаимодействие, причем состав и конформационные свойства белков в свою очередь влияют на состояние мембранных липидов [14]. Экранируя липиды, белки снижают воздействие на них фосфолипаз, АФК и других повреждающих факторов. Имеются экспериментальные доказательства того, что радикальной атаке в первую очередь подвергаются не липиды, а белки плазматической мембраны клетки, что сопровождается нарушением ее структуры и лизисом клетки [15, 16].

В процессе оперативного вмешательства и анестезии создаются предпосылки для образования АФК: хирургический стресс, действие средств для наркоза, инфузионная терапия, воздействие повышенных концентраций кислорода, нарушения кровообращения в органах и тканях и т.д. [17, 18].

В нашем исследовании различий по возрасту, характеру операции, составу и объему инфузионной терапии не было. Группы больных отличались только методом использованной анестезии. Поэтому изменения в показателях ОС

Таблица 1

Изменение показателей ОС и АОС в условиях нейролептанальгезии

№	Показатель	Норма	I этап	II этап	III этап	IV этап
1	Уровень МДА, мкМ/л	1,7±0,3	1,8±0,4	1,8±0,5	1,9±0,4	2,0±0,5
2	БКГ, нмоль/мг	0,72±0,16	0,73±0,18	1,08±0,22*	1,06±0,22*	0,95±0,19*
3	БСГ, мМоль	0,421±0,064	0,425±0,061	0,405±0,059	0,399±0,067	0,407±0,064
4	КТ, ед/г Нв	155,7±11,9	154,6±11,8	149,4±12,9	152,3±12,4	150,4±11,3
5	СОД, ед/мг Нв	5,8±0,8	5,7±0,9	5,6±1,0	5,7±0,7	5,6±0,9
6	ГП, ед/г Нв	14,1±2,2	14,0±2,3	13,8±2,3	14,0±2,4	13,9±2,0

* - p<0,05 в сравнении с нормой

Таблица 2

Изменение показателей ОС и АОС в условиях атаралгезии

№	Показатель	Норма	I этап	II этап	III этап	IV этап
1	Уровень МДА, мкМ/л	1,7±0,3	1,8±0,3	1,9±0,5	2,0±0,5	1,9±0,4
2	БКГ, нмоль/мг	0,72±0,16	0,74±0,2	1,18±0,25*	1,17±0,20*	1,07±0,18*
3	БСГ, мМоль	0,421±0,064	0,422±0,062	0,403±0,074	0,380±0,056*	0,400±0,064
4	КТ, ед/г Нв	155,7±11,9	152,8±11,2	149,4±11,1	126,3±10,8*	129,1±12,5*
5	СОД, ед/мг Нв	5,8±0,8	5,6±1,0	5,4±1,1	4,5±0,9*	5,7±1,0
6	ГП, ед/г Нв	14,1±2,2	14,2±2,4	13,9±2,2	12,1±2,0*	12,4±2,1*

* - p<0,05 в сравнении с нормой

Таблица 3

Изменение показателей ОС и АОС при сбалансированной анестезии пропофолом

№	Показатель	Норма	I этап	II этап	III этап	IV этап
1	Уровень МДА, мкМ/л	1,7±0,3	1,8±0,4	1,9±0,4	2,0±0,6	1,9±0,4
2	БКГ, нмоль/мг	0,72±0,16	0,70±0,19	0,88±0,22*	0,78±0,21	0,75±0,22
3	БСГ, мМоль	0,421±0,064	0,423±0,059	0,412±0,062	0,410±0,065	0,411±0,064
4	КТ, ед/г Нв	155,7±11,9	156,7±12,1	150,7±15,2	148,4±13,8	149,3±12,9
5	СОД, ед/мг Нв	5,8±0,8	5,8±1,0	5,7±1,1	5,7±1,2	5,6±0,9
6	ГП, ед/г Нв	14,1±2,2	13,9±2,3	13,8±2,4	13,7±2,5	13,8±2,4

* - p<0,05 в сравнении с нормой

Таблица 4

Изменение показателей ОС и АОС при наркозе севофлураном

№	Показатель	Норма	I этап	II этап	III этап	IV этап
1	Уровень МДА, мкМ/л	1,7±0,3	1,8±0,4	2,4±0,6*	2,3±0,5*	2,0±0,5
2	БКГ, нмоль/мг	0,72±0,16	0,72±0,2	0,95±0,23*	0,97±0,24*	0,87±0,21*
3	БСГ, мМоль	0,421±0,064	0,419±0,062	0,406±0,068	0,407±0,069	0,412±0,072
4	КТ, ед/г Нв	155,7±11,9	153,4±11,4	154,4±12,7	186,4±17,9*	175,8±17,2*
5	СОД, ед/мг Нв	5,8±0,8	5,7±0,8	5,9±0,9	6,0±1,1	5,9±0,9
6	ГП, ед/г Нв	14,1±2,2	14,2±2,4	14,9±2,5	17,3±2,8*	15,4±2,7

* - p<0,05 в сравнении с нормой

и АОС связаны с особенностями действия анестетиков.

Больные 2-й группы были оперированы в условиях атаралгезии. На II этапе исследования обнаружили возрастание концентрации карбонилов в белках до 1,18±0,25 нмоль/мг (н=0,72±0,16 нмоль/мг, p<0,05) (табл. 2). После окончания операции (III этап) содержание БКГ было достоверно выше нормы, а концентрация БСГ уменьшалась до 0,380±0,056 мМоль (н=0,421±0,064 мМоль, p<0,05). Одновременно снизилась активность ферментов антиоксидантной защиты: КТ, СОД и ГП. На 1-е сутки после операции содержание БКГ было повышенным, вместе с тем наблюдали нормализацию концентрации БСГ, активность КТ и ГП были ниже нормы. Представленные данные свидетельствуют о более выраженной активации свободно-радикальных процессов в условиях атаралгезии.

В третьей группе в качестве компонента сбалансированной анестезии был использован пропофол. На II этапе отмечали достоверное возрастание уровня карбонилов в белках (табл. 3). Остальные изучаемые показатели были в пределах нормальных значений. После операции регистрировали нормализацию содержания БКГ. На 1-е сутки после операции все изучаемые параметры не отличались от исходного уровня.

В литературе имеются сведения, подтверждающие наши данные о минимальных изменениях в параметрах ОС и АОС при использовании пропофола. Ранее в экспериментальном исследовании установили, что при инфузии пропофола наблюдаются минимальные изменения в уровне МДА, активности СОД и ГП [17].

У больных 4-й группы применили ингаляционный анестетик севофлуран. В самый травматичный момент операции отметили увеличение содержания карбонилов в белках и МДА (табл. 4). В дальнейшем после операции уровень МДА и БКГ оставался повышенным, одновременно наблюдали возрастание активности КТ и ГП. Увеличение активности ферментов АОС можно расценивать как компенсаторную реакцию организма на окислительное повреждение белков и липидов. На 1-е сутки после операции оставались повышенными уровень БКГ и активность КТ, остальные параметры не отличались от нормы.

Представленные результаты свидетельствуют, что от метода анестезиологического обеспечения зависит характер изменений показателей ОС и АОС. Это не удивительно, т.к. сам механизм действия анестетиков связан с влиянием их на функционирование клеток организма.

Также важным моментом на наш взгляд является проблема адекватности анестезии. Установлено, что в условиях недостаточной блокады болевых импульсов возможна активация свободно-радикальных процессов. Мы в своей работе для оценки адекватности анестезии ориентировались на клинические и инструментальные методы: цвет кожных покровов, частоту сердечных сокращений, артериальное давление и т.д. Различий по исследуемым показателям между группами не выявили. Мы сознательно не приводим эти данные, так как они достаточно широко освещены в литературе. В обсуждаемом исследовании были нивелированы различия между группами по всем признакам, кроме метода анестезии. Важно подчеркнуть, что мы изучали эффекты только препаратов, применяемых для общей анестезии. В исследования не включены больные, оперированные под регионарным обезболиванием. Считается, что общее обезболивание сильнее воздействует на процессы свободно-радикального окисления [13].

Представляется важным подробно сравнить выявленные различия между группами по показателям ОС и АОС в зависимости от примененной методики анестезии. Первые изменения у больных мы регистрировали на II этапе обследования. Установили, что в наиболее травматичный момент операции ОМБ наблюдается во всех группах, о чем свидетельствовало увеличение содержания БКГ в сравнении с нормой. Важно заметить, что концентрация карбонилов в белках при использовании пропофола и севофлурана была ниже, чем при атаралгезии и НЛА.

После операции окислительное повреждение белков сохранялось во всех группах, кроме больных, у которых использовали пропофол. На 1-е сутки послеоперационного периода наблюдалась аналогичная картина на фоне тенденции к уменьшению уровня БКГ.

При анализе содержания БСГ обнаружили снижение их уровня до 0,380±0,056 мМоль ($p<0,05$ в сравнении с нормой и показателями других групп) только после операции в группе, где использовалась атаралгезия.

Интенсификацию ПОЛ и как следствие увеличение уровня МДА выявили только у больных 4-й группы на наиболее травматичном этапе операции и в раннем послеоперационном периоде.

Необходимо заметить, что ОМБ регистрировали значительно чаще, чем пероксидацию липидов. Это объясняется большей чувствительностью протеинов к АФК, образующихся в условиях ОС.

Изменения параметров АОС обнаружили при атаралгезии и наркозе севофлураном. Снижение активности КТ и ГП у больных 2-й группы наблюдали на фоне окислительного повреждения белков в раннем послеоперационном периоде. Аналогичные изменения зарегистрировали на 1-е сутки после операции. Логично было бы ожидать усиления антиоксидантной активности в ответ на ОМБ, однако мы получили обратный результат. Это можно объяснить особенностями действия препаратов для атаралгезии на показатели ОС и АОС.

В условиях севофлуранового наркоза результаты оказались противоположными. В ответ на увеличение окислительного повреждения белков и липидов в послеоперационном периоде обнаружили возрастание активности КТ и ГП. При сравнении 2-й и 4-й групп уровень БКГ после операции составил соответственно 1,17±0,20 нмоль/мг и 0,97±0,24 нмоль/мг ($p<0,05$ между группами), а на 1-е сутки послеоперационного периода соответственно 1,07±0,18 нмоль/мг и 0,87±0,21 нмоль/мг ($p<0,05$ между группами). Более низкие значения БКГ при ингаляционной анестезии объясняются возрастанием активности ферментов антиоксидантной защиты в условиях наркоза севофлураном.

Таким образом, проведенное исследование параметров ОС и АОС при различных методах общего обезболивания позволяет утверждать, что наименьшее влияние на изучаемые показатели оказывает сбалансированная анестезия на основе пропофола. Выявленные изменения можно связать с антиоксидантными свойствами пропофола. Действительно, по своей структуре он схож с жирорастворимым антиоксидантом α-токоферолом [19]. Антиоксидантный эффект определяется способностью пропофола связывать АФК и другие радикалы с образованием менее активных компонентов [20]. В эксперименте выявлено значительное снижение повреждающего действия ONOO- на астроциты в присутствии пропофола, причем степень уменьшения токсичности зависела от дозы препарата [19]. В клинических исследованиях было установлено, что в присутствии пропофола снижается степень перекисного окисления липидов [21]. Полученные нами результаты свидетельствуют, что в дозах, используемых для анестезии, антиоксидантное действие пропофола проявляется не только ингибированием пероксидации липидов, но и препятствием окислительной модификации белков.

Выводы

1. У хирургических больных с абдоминальной патологией под влиянием общей анестезии регистрируется окислительное повреждение белков и липидов на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты.

2. Применение сбалансированной анестезии на основе пропофола оказывает минимальное влияние на показатели ОС и АОС в сравнении с НЛА, атаралгезией и наркозом севофлураном.

Литература

1. Пасечник И.Н. // Вестник интенсивной терапии. – 2004. – № 3. – С. 27-30.
2. Halliwell B. // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – Vol. 35. – P. 1147–1150.
3. Герчиков А.Я., Гарифуллина Г.Г., Ахметшина Л.Н., Галеев Ф.С. // Хим.-фарм. журнал. – 2000. - № 12. – С. 3–4.
4. Bogra J., Gangoo. R., Randey V.C., Srivastava P. // J. Indian. Med. Assoc. – 2007. – Vol. 105. - P. 128-129.
5. Koksal G.M., Sayilgan C., Aydin S. et al. // Eur. J. Anaesthesiol. – 2004. – Vol. 21. – P. 217-220.
6. Золотухин К.Н., Галлеев Ф.С. // Журнал интенсив. терапия. – 2005. – № 3. – С. 14–16.
7. Лешихина Ю.А., Прилуцкая Н.В., Цкаева Т.М. и др. // Вест. интенсив. тер. – 2006. - № 1. – С. 67–70.
8. Шнайдер Н.А., Шпрах В.В., Салмина А.Б. Постоперационная когнитивная дисфункция (диагностика, профилактика, лечение). – Красноярск: «Новые компьютерные технологии», 2005. – 95 с.
9. Mihara M., Uchiyama M. // Anal. Biochem. – 1978. – Vol. 86. – P. 271–280.
10. Ellman G.L. // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
11. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. et al. // Methods Enzymol. – 1990. – Vol. 186. – P. 464–478.
12. Валеева В.А. Влияние комбинированной общей анестезии на пероксидацию липидов у больных с абдоминальной хирургической патологией. Дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 1997. – 193 с.
13. Bravo-Cuellar A., Romero-Ramos J.E., Hernandez-Flores G. et al. // Cir. Cir. – 2007. – Vol. 75. – P. 99–105.
14. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М, Медицина. – 1989. – 368 с.
15. Cuzzocrea S., Riley D.P., Caputi A.P., Salvemini D. // Pharmacol. Rev. – 2001. – Vol. 53. – P. 135-159.
16. Richards D.M., Dean R.T., Jessup W. // Biochim. Biophys. Acta - 1988. – Vol. 946. – P. 281–288.
17. Allaouchiche B., Debon R., Goudable J. et al. // Anesth. Analg. – 2001. – Vol. 93. – P. 981–985.
18. Neri S., D,Amico R., D,Angelo G. et al. // Minerva Med. – 1993. – Vol. 84. – P. 183–186.
19. Li Volti G., Murabito P., Attaguile G. // EXCLI Journal. – 2006. – Vol. 5. – P. 25–32.
20. Green T.R., Bennett S.R., Nelson V.M. // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 1994. – Vol. 129. – P. 163-169.
21. Manataki A.D., Tselepis A.D., Glantzounis G.K. et al. // Surg. Endosc. – 2001. – Vol. 15. – P. 950–953.