

© Т.Ю. КАДОЧНИКОВА, С.Л. ГАЛЯН
galyan@tyumsma.ru

УДК 616.15+612.12

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ ЭРИТРОЦИТОВ И ПЛАЗМЫ КРОВИ В ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

АННОТАЦИЯ. Включение селена в протокол интенсивной терапии больных с тяжелыми формами абдоминального сепсиса приводит к большей эффективности в направлении стабилизации в системе ЛПО-АОЗ эритроцитов и плазмы крови, что привело к снижению общей тяжести состояния, уменьшению сроков пребывания больных в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

SUMMARY. Inclusion of selenium in standard of the intensive care of patients with severe forms of abdominal sepsis results in stabilization of system of erythrocytes and blood plasma LPO-AOP. That leads to improvement of grave condition and shortening of patients' stay in resuscitation department.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. Абдоминальный сепсис, липидпероксидация, селен.
KEY WORDS. Abdominal sepsis, lipidperoxidation, selenium.

Эндогенная интоксикация и окислительный стресс лежат в основе патогенеза тяжелых форм абдоминального сепсиса (АС). По данным различных авторов, летальность колеблется от 28 до 50% [1], [2]. У больных АС происходят существенные изменения метаболических процессов, как результат массивного выброса медиаторов воспаления. В настоящее время одним из направлений коррекции метаболических нарушений у больных АС является использование фармаконутриентов. Применение энтеральных смесей с добавлением ω -3-жирных кислот и антиоксидантов вызывало снижение летальности, длительности искусственной вентиляции легких и госпитализации у больных АС [3]. При этом в ряде исследований было показано, что развитие оксидативного стресса у таких больных связано с нарушениями в системе антиоксидантной защиты (АОЗ) и ассоциирует с нарастанием органной дисфункции и увеличением летальности [3], [4]. При этом следует подчеркнуть, что в обеспечении функционирования ферментативного компонента АОЗ существенную роль играет содержание в плазме крови микроэлементов, среди которых следует выделить селен. В ряде исследований показана достоверно низкая концентрация селена в плазме крови у больных АС, восполнение которой способствовало снижению частоты острой почечной недостаточности и летальности. В то же время другими авторами не выявлено влияния дополнительного введения селена на исход заболевания. Эффективность применения селена у больных АС оценивалась в большинстве исследований по клиническим параметрам, практически отсутствуют данные использования показателей метаболизма спектра липидов [3], [5]. Таким образом, результаты исследований не позволяют сделать окончательные выводы об эффективности терапии с использованием селена.

Цель исследования. Изучение эффективности использования селена в коррекции окислительного метаболизма липидов эритроцитов и плазмы крови в комплексе интенсивной терапии больных абдоминальным сепсисом.

Экспериментальная часть. Работа основана на изучении результатов исследования в ходе интенсивной терапии больных с тяжелыми формами сепсиса в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В него включены 58 больных с абдоминальным сепсисом (АС) в возрасте $41,2 \pm 10,1$ года и индексом тяжести состояния по шкале APACHE-II >15 баллов. В соответствии с критериями согласительной конференции АССР/СССМ больные были распределены следующим образом: 26 (44,82%) больных с септическим шоком, 32 (55,17%) — с тяжелым сепсисом, всем больным выполнена хирургическая санация очага инфекции. О развитии органно-системной дисфункции и степени ее тяжести судили по шкале SOFA. Интенсивная терапия у всех больных проведена в соответствии с Рекомендациями РАСХИ (2004 г.). Схему нутритивной поддержки (использовали аминокислоты, жировые эмульсии, питательные смеси) подбирали с учетом тяжести гиперкатаболической реакции, особенностей операции, клиники. Больные распределены на две группы (1 и 2), отличающиеся включением в комплексную терапию второй группы селенита натрия («Selenase», Biosyn), который вводили в дозе 300 мг/сутки внутривенно на протяжении 5 дней. Клиническое и лабораторное обследование проводили по стандартным показателям при поступлении в ОРИТ на 1-е, 3-и и 5-е сутки интенсивной терапии. В качестве группы сравнения обследованы практически здоровые доноры ($n=22$), в возрасте от 20 до 51 года без клинических проявлений каких-либо заболеваний.

Для анализа показателей окислительного метаболизма липидов использовали субстрат одной липидной природы, полученный экстракцией липидов эритроцитов и плазмы крови смесью гептан/изопропиловый спирт, исследование проводили в гептановой фазе. Оценивали динамику следующих показателей ЛПО — АОЗ: диеновые конъюгаты (ДК, мкМ/мл), общие липиды (ОЛ, мг/мл); скорость окисления (СО, мм³/мин), характеризующей устойчивость липидов к перекисидации; период индукции (ПИ, мин/мл), отражающему общую антиоксидантную активность липидов [6]. Определяли содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) и его фракций (мкМ/мл): фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилхолин (ФХ), также содержание эфиров холестерина (ЭХС, мкМ/мл) и свободного холестерина (СХС, мкМ/мл); рассчитывали коэффициенты отношений между фракциями на этапах исследования (ОХС/ОФЛ, ЭХС/СХС, ФЭА/СХС, ФХ/СХС, ФЭА/ФХ). Ферментативный компонент оценивали по активности глутатионпероксидазы (GSH-Px) в цельной крови [7]. Определяли характер парных корреляционных связей параметров ЛПО, АОЗ, показателей обмена липидов эритроцитов и клинических параметров. Различия между сравниваемыми группами рассматривали как достоверные при значениях степени вероятности $<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Развитие системной воспалительной реакции сопровождалось существенными изменениями показателей в системе ЛПО-АОЗ мембран эритроцитов и плазмы крови у больных АС в сравнении с донорами. В первые сутки пребывания в ОРИТ у больных выявлено усиление окислительного метаболизма липидов, на что указывал высокий уровень ДК, превышающий нормальные значения в 1,72-1,88 раз ($p<0,01$), снижение СО

(на 67,33 — 74,09%; $p < 0,01$), при сопряженном возрастании ПИ в 7,8 раз ($p < 0,001$) как в эритроцитах, так и в плазме.

В данном исследовании наблюдалась разнонаправленность изменений СО (уменьшение) и ПИ (увеличение), что однозначно указывает на изменение жирно-кислотного состава липидов эритроцитов и плазмы крови в сторону значительного дефицита ненасыщенных компонентов, а также нарушения в системе «липолиз — липогенез».

Свидетельством усиления липолиза и угнетения липогенеза является снижение содержания ОЛ у больных АС на 23,91-26,88% ($p < 0,01$), в сравнении с донорами, что является неспецифической компенсаторно-адаптационной реакцией организма. Мы расцениваем резкое снижение уровня ОЛ как адекватную реакцию организма на повышенную потребность в энергии на фоне высокой активности системной воспалительной реакции организма.

Таблица 1

Динамика показателей системы ЛПО-АОЗ эритроцитов больных сепсисом при стандартной терапии и дополненной селеном ($M \pm m$)

Показатель	Группа	Послеоперационный период, сутки		
		1	3	5
ДК, мкМ/мл	1-я	2,93±0,09 ^с	2,34±0,11 ^б	1,88±0,09 ^с
	2-я	2,61±0,04	1,95±0,05	1,38±0,04
СО, мм ³ /мин	1-я	0,33±0,03 ^с	0,38±0,05 ^а	0,43±0,03 ^а
	2-я	0,42±0,05	0,32±0,07	0,19±0,06
ПИ, мин/мл	1-я	4,41±0,13 ^б	3,08±0,17 ^с	1,98±0,13 ^с
	2-я	170,3±3,8	194,5±4,2	242,2±3,7
ОЛ, мг/мл	1-я	4,41±0,13 ^б	3,08±0,17 ^с	1,98±0,13 ^с
	2-я	4,42±0,05	2,45±0,04	2,81±0,05
ОФЛ	1-я	1,273±0,001	1,130±0,001 ^а	1,023±0,002
	2-я	1,153±0,002	1,124±0,002	1,379±0,002
ОХС	1-я	3,581±0,020	3,215±0,019	2,507±0,018 ^а
	2-я	3,943±0,023	3,464±0,019	2,514±0,021
ЭХС	1-я	1,340±0,012	1,772±0,011 ^б	1,155±0,009 ^с
	2-я	1,230±0,009	1,640±0,012	1,273±0,011
ФХ	1-я	0,458±0,002	0,417±0,003	0,331±0,001 ^а
	2-я	0,394±0,002	0,422±0,002	0,455±0,001
ФЭА	1-я	0,152±0,001	0,122±0,002 ^а	0,109±0,003 ^а
	2-я	0,139±0,001	0,166±0,002	0,343±0,001

Примечание: ^а) — $p < 0,05$ ^б) — $p < 0,01$ ^с) — $p < 0,001$ в сравнении с предыдущим этапом.

Развитие оксидативного стресса у больных АС протекает на фоне недостаточной эффективности системы АОЗ, на что указывает снижение активности GSH-Px на 41,37% ($p < 0,001$) и высокий уровень первичных продуктов окисления липидов.

Применение питательных смесей в терапии больных АС (1-я группа) способствовало снижению свободнорадикальных процессов (табл. 1 и 2). К пятым суткам интенсивной терапии установлено прогрессирующее снижение в эритроцитах и плазме крови содержания ДК (на 35,84% и 29,34%; $p < 0,01$) и ПИ

(на 26% в обоих случаях; $p < 0,001$). Одновременно возрастала СО липидов в эритроцитах на 24,8% ($p < 0,01$) и наиболее значительно в плазме (в 2,2 раза; $p < 0,001$) в сравнении с показателями на первые сутки.

Также наблюдали достоверное повышение активности GSH-Px на 13,6% ($p < 0,05$). Однако, несмотря на позитивные изменения в системе ЛПО-АОЗ, у больных 1-й группы сохраняется высокий уровень гиперметаболизма — гиперкатаболизма с выраженным увеличением потребностей в белково-энергетических субстратах.

Несмотря на проводимую терапию, установлено снижение содержания ОЛ в плазме на 37,79% ($p < 0,01$) и еще более значительное — в эритроцитах (в 2,2 раза; $p < 0,001$). Выявленная динамика метаболических реакций свидетельствует о более высоком уровне дестабилизирующих процессов в мембранах эритроцитов, чем в плазме на всех этапах исследования.

Наиболее благоприятный характер изменений в системе ЛПО-АОЗ выявлен у больных АС в условиях терапии, дополненной селеном (2-я группа; табл. 1 и 2). К пятым суткам пребывания в ОРИТ регистрировалось более выраженное снижение активности ЛПО, на что указывало прогрессирующее снижение СО на 49,19% ($p < 0,001$) и 12,01% ($p < 0,05$), при сопряженном увеличении ПИ на 36,35% ($p < 0,01$) и 9,48% ($p < 0,05$) в мембранах эритроцитов и плазмы соответственно в сравнении с первыми сутками. Также установлено достоверное уменьшение показателя ДК на 50-30% в эритроцитах и плазме крови, при сопряженном увеличении активности GSH-Px на 36,97% ($p < 0,01$).

Таблица 2

Динамика показателей системы ЛПО-АОЗ плазмы крови больных сепсисом при стандартной терапии и дополненной селеном ($M \pm m$)

Показатель	Группа	Послеоперационный период, сутки		
		1	3	5
ДК, мкМ/мл	1-я	2,48±0,08 ^c	2,23±0,09 ^a	1,74±0,07 ^b
	2-я	2,35±0,09	1,99±0,07	1,63±0,06
СО, мм ³ /мин	1-я	0,25±0,02 ^c	0,31±0,04 ^b	0,55±0,04 ^c
	2-я	0,31±0,03	0,44±0,03	0,27±0,04
ПИ, мин/мл	1-я	217,1±4,7 ^c	183,6±6,5 ^a	158,7±4,9 ^a
	2-я	157,2±3,9	136,3±5,6	172,1±5,2
ОЛ, мг/мл	1-я	3,89±0,25 ^b	3,14±0,21 ^a	2,42±0,17 ^b
	2-я	3,63±0,19	3,12±0,22	2,64±0,18
ОФЛ	1-я	1,684±0,001	2,058±0,002 ^b	2,338±0,002 ^a
	2-я	1,552±0,002	1,961±0,002	2,418±0,002
ОХС	1-я	8,008±0,022	5,395±0,021 ^b	4,876±0,019
	2-я	7,578±0,016	7,613±0,015	8,020±0,021
ЭХС	1-я	5,905±0,016	4,133±0,019 ^b	3,891±0,018
	2-я	5,377±0,009	5,690±0,015	6,044±0,018
ФХ	1-я	0,431±0,002	0,579±0,003 ^b	0,677±0,003 ^a
	2-я	0,417±0,002	0,615±0,003	0,762±0,003
ФЭА	1-я	0,217±0,002	0,228±0,001	0,263±0,001 ^a
	2-я	0,223±0,002	0,289±0,002	0,428±0,001

Примечание: ^{a)} — $p < 0,05$ ^{b)} — $p < 0,01$ ^{c)} — $p < 0,001$ в сравнении с предыдущим этапом

Выявлена положительная динамика в изменении содержания ОЛ на этапах исследования, особенно в эритроцитах, где к 5-м суткам установлено более чем в 6 раз меньшее снижение показателя в сравнении с 1-ой группой. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение селена в интенсивной терапии АС оказывает антиоксидантное, иммунокорректирующее и противовоспалительное действие [3], [4].

При анализе полученных данных в группах сравнения выявлен большой спектр корреляционных взаимосвязей показателей системы ЛПО-АОЗ (ДК: $r=0,82$, $p<0,05$; ПИ: $r=0,85$, $p<0,05$) и клинических параметров у больных АС, оцененных по шкале SAPS II и SOFA. Включение селена в протокол интенсивной терапии привело к снижению общей тяжести состояния в 1,3 раза, уменьшению сроков пребывания больных в ОРИТ на 14,5%.

Исследование спектра фосфолипидов мембран эритроцитов и плазмы крови на этапах исследования является отражением глубоких изменений в обмене липидов и угнетении липогенеза в гепатоцитах печени (табл. 1,2 и 3,4). Подтверждением является достоверное снижение у больных 1-й группы содержания ОФЛ (на 19,64%; $p<0,05$), ОХС и его эфиров (на 30,01 и 13,81%; $p<0,05$), а также фракций ФХ и ФЭА на 27% ($p<0,05$) в эритроцитах к 5-ым суткам интенсивной терапии в сравнении с 1-ми. Снижение количества ФХ в мембране эритроцита способствует повышению коагуляционной активности клетки.

Окислительный метаболизм липидов в плазме на фоне интенсивной терапии (1-я группа) характеризуется разнонаправленным изменением показателей (уменьшение или увеличение) на этапах исследования и в сравнении с эритроцитами. Так, например, снижение содержания практически всех фракций фосфолипидов в эритроцитах сопровождается соответственно одновременным увеличением или недостоверным изменением в плазме. Указанное положение можно продемонстрировать динамикой содержания ФХ и ФЭА, входящих в структуру мембран и органелл, для которых установлено снижение в эритроцитах соответственно на 27,73% ($p<0,05$) и 28,31% ($p<0,05$). При этом выявлено повышение указанных фракций в плазме, соответственно на 21,18% ($p<0,05$) и 57,08% ($p<0,001$) к 5-ым суткам интенсивной терапии в сравнении с 1-ми. Применение селена вызывает противоположное изменение показателей (увеличение) спектра липидов в эритроцитах, кроме содержания ОХС и его эфира, которые изменяются однонаправленно (уменьшение) в сравнении с 1-й группой.

Таблица 3

Коэффициенты отношений фракций фосфолипидов эритроцитов больных сепсисом при стандартной терапии и дополненной селеном ($M \pm m$)

Отношения фракций	Группа	Этапы исследования		
		1	2	3
ОХС/ОФЛ	1-я	2,81±0,021	2,84±0,016	2,45±0,013
	2-я	3,42±0,019	3,00±0,023	1,82±0,021
ЭХС/СХС	1-я	0,591±0,002	1,228±0,002	1,026±0,001
	2-я	0,453±0,002	0,899±0,002	1,026±0,003
ФЭА /СХС	1-я	0,067±0,001	0,084±0,001	0,081±0,001
	2-я	0,051±0,001	0,091±0,001	0,276±0,002

Окончание табл. 3

ФХ/СХС	1-я	0,059±0,001	0,079±0,002	0,067±0,002
	2-я	0,039±0,001	0,049±0,001	0,045±0,001
ФЭА/ФХ	1-я	0,273±0,001	0,292±0,001	0,329±0,001
	2-я	0,353±0,002	0,393±0,001	0,754±0,001

Примечание: ^{a)} — $p < 0,05$ ^{b)} — $p < 0,01$ ^{c)} — $p < 0,001$ в сравнении с предыдущим этапом

Обращает на себя факт значительного повышения содержания фракции ФЭА (в 2,47 раз; $p < 0,001$), обладающей высокой тромбопластической активностью. В условиях гипоксии это приводит к разрушению мембраны и, как следствие, усилению тромбогенеза, что может усиливать образование эритроцитарных агрегатов в микрососудистом русле. С другой стороны, в состав фракции ФЭА входят высоконасыщенные жирные кислоты, повышение их содержания может способствовать нормализации воспалительной реакции у больных, находящихся в критическом состоянии. ω -3-Жирные кислоты обладают гиполипидимическим эффектом, оказывают гипокоагуляционное, противовоспалительное и иммуномодулирующее действие [3].

Закономерности окислительного метаболизма липидов под влиянием селена (2-я группа), обнаруженные в эритроцитах, сохраняются и в плазме, но в большем диапазоне концентраций в сторону увеличения. Особенно это характерно для динамики ФХ и ФЭА, содержание которых увеличивается в 1,83 раза ($p < 0,01$).

Таблица 4

Коэффициенты отношений фракций фосфолипидов плазмы крови больных сепсисом при стандартной терапии и дополненной селеном ($M \pm m$)

Отношения фракций	Группа	Этапы исследования		
		1	2	3
ОХС/ОФЛ	1-я	4,75±0,013	2,62±0,016	2,08±0,021
	2-я	4,88±0,019	3,88±0,018	3,517±0,021
ЭХС/СХС	1-я	2,808±0,011	3,275±0,013	3,950±0,009
	2-я	2,432±0,011	2,959±0,012	3,515±0,011
ФЭА /СХС	1-я	0,103±0,001	0,181±0,001	0,267±0,001
	2-я	0,101±0,001	0,151±0,002	0,240±0,002
ФХ/СХС	1-я	0,205±0,001	0,458±0,002	0,732±0,002
	2-я	0,189±0,001	0,404±0,002	0,406±0,002
ФЭА/ФХ	1-я	0,503±0,002	0,394±0,003	0,388±0,002
	2-я	0,535±0,002	0,469±0,001	0,562±0,002

Примечание: ^{a)} — $p < 0,05$ ^{b)} — $p < 0,01$ ^{c)} — $p < 0,001$ в сравнении с предыдущим этапом

На восстановление структуры и функции мембран, повышение активности гепатоцитов печени, как положительный результат интенсивной терапии у больных абдоминальным сепсисом, указывает прогрессирующее повышение коэффициента отношения ФЭА/ФХ. Так, в эритроцитах к 5-ым суткам в сравнении с 1-ми сутками выявлено повышение коэффициента отношения ФЭА/ФХ: в 1-й группе на 20,21% ($p < 0,05$), а под влиянием селена — в 2,13 раз ($p < 0,001$). При этом в плазме не получено достоверных различий.

На фоне проводимой интенсивной терапии и дополненной селеном к 5-ым суткам установлена положительная динамика холестеролсинтезирующей функции печени, на что указывает повышение в эритроцитах и плазме коэффициентов: ФХ/СХС, ФЭА/СХС, ЭХ/СХС, ФЭА/ФХ в диапазоне значений от 15 до 220% в сравнении с 1-ми сутками. Наиболее выраженные изменения характерны для эритроцитов больных 2-й группы. Уменьшение коэффициента ОХС/ОФЛ в группах сравнения однозначно свидетельствует о снижении активности свободнорадикальных процессов в липидах мембран эритроцитов и плазмы крови.

Выводы

У больных АС регистрируется активация пероксидного окисления липидов и депрессия антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови, сопровождающиеся существенными изменениями спектра липидов, при сопряженном снижении содержания общих липидов

Проводимая интенсивная терапия у больных АС ограничивает развитие свободнорадикальных процессов и окислительный метаболизм липидов, однако диапазон изменений исследуемых показателей не обеспечивает нормализации процессов.

Включение селена в протокол интенсивной терапии приводит к большей выраженности в направлении стабилизации процессов в системе ЛПО-АОЗ эритроцитов и плазмы крови, что сопровождается снижением скорости окисления липидов, повышением антиоксидантного потенциала и характеризуется менее деструктивными изменениями в спектре липидов.

Проведенные исследования отчетливо демонстрируют необходимость включения антиоксидантов в комплекс интенсивной терапии больных абдоминальным сепсисом для снижения последствий окислительного стресса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З., Подачин П.В. и др. Абдоминальный сепсис: современный взгляд на нестареющую проблему (часть 3) // Вестник интенсивной терапии. 1998. № 1. С. 12-16.
2. Пасечник И.В., Рябов Г.А., Азизов Ю.М. и др. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях // Вестник интенсивной терапии. 2002. № 4. С. 4-7.
3. Цветков Д.С. Возможности использования фармаконутриентов в лечении больных сепсисом // Инфекции в хирургии. 2008. № 4. С. 14-20.
4. Angstwurn, M.W.A., Engelmann, L., Zimmermann, T. et al. Selenium in intensive care (SIG): Results of a prospective randomized, placebo controlled multi-center study in patients with severe SIRS, sepsis? and septic shock // Crit Care Med. 2006. №. 35. P. 118-126.
5. Avenell, Noble D.W., Barr, J., Engelhardt, T. Selenium supplementation for critically ill adults // Crit Care Med. 2007. №. 35. P. 564-567.
6. Ушкалова В.Н., Иоанидис Н.В., Кадочникова Г.Д. и др. Комплексный анализ липидов крови спектрофотометрическим, флюориметрическим и кинетическим методами // Лабораторное дело. 1987. № 6. С.446-450.
7. Карпищенко В.С. Медицинские лабораторные технологии: справочник. СПб.: Интермедика, 2002. 600 с.