

УДК 615.72-616-001.8

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЯХ ПРИ САХАРНОМ
ДИАБЕТЕ, ОСЛОЖНЕННОМ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ
ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

¹Малышко В.В., ²Федосов С.Р., ¹Басов А.А., ¹Чернобай К.Н.

¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, e-mail: Intro-2@rambler.ru;

²ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского», Краснодар, e-mail: sergey_fedosov@mail.ru

Была проведена сравнительная оценка состояния прооксидантно-антиоксидантного равновесия на общем (в раневом отделяемом) и местном (в периферической крови) уровнях у пациентов, длительно страдающих сахарным диабетом, осложнившимся развитием острой (флегмона) или хронической (рана) хирургической инфекции. Продемонстрировано, что имеются статистически значимые различия динамики изменений прооксидантно-антиоксидантной системы в экссудате раны и в крови, а также между пациентами с острой и хронической хирургической инфекцией на фоне сахарного диабета. Также установлено, что показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови имеют прямую зависимость от площади раны, что обусловлено увеличением морфологического субстрата прооксидантной нагрузки при увеличении площади раневой поверхности. Полученные данные могут быть использованы для коррекции терапии в клинической практике с учетом стадийности раневого процесса.

Ключевые слова: сахарный диабет, хирургическая инфекция, прооксиданты, антиоксиданты, хемилюминесценция

**COMPARATIVE EVALUATION OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM IN
PATIENTS WITH DIABETES, COMPLICATIONS OF ACUTE AND CHRONIC
SURGICAL INFECTIONS**

¹Malyshko V.V., ²Fedosov S.R., ¹Basov A.A., ¹Chernobay K.N.

¹State budget educational institution of higher education «Kuban State Medical University», Krasnodar, e-mail: Intro-2@rambler.ru;

²State Budget Institution of Health «Regional Clinical Hospital № 1 named after Professor S.V. Ochapovsky», Krasnodar, e-mail: sergey_fedosov@mail.ru

The paper presents the results of investigation of prooxidant-antioxidant balance in general (in the wound discharge) and local (in peripheral blood) levels in patients with long-term diabetes mellitus complicated by the development of acute (abscess) or chronic (wound) surgical infections. Demonstrated that there were statistically significant differences in the dynamics of changes of prooxidant- antioxidant system in wound exudate and blood, as well as between patients with acute and chronic surgical infection and diabetes mellitus. Also found that the performance of prooxidant- antioxidant blood system are directly dependent on the area of the wound caused by an increase of morphological substrate prooxidant load by increasing the area of the wound. The data obtained can be used in therapy for correction of any antioxidant oriented at each of the stages of wound healing.

Keywords: diabetes, surgical infection, pro-oxidants, antioxidants, nutricionalogy

Сахарный диабет (СД) является социально значимым хроническим заболеванием, при котором достаточно часто происходит поражение сосудов и нервов нижних конечностей, что приводит к формированию синдрома диабетической стопы (СДС), нередко сопровождающегося острыми и хроническими инфекционными осложнениями. Следует отметить, что разработка эффективных методов диагностики течения раневого процесса, а также выбор оптимального метода лечения продолжает оставаться одной из актуальных проблем в современной клинической практике [7], в том числе в связи с распространенностью гнойно-воспалительных заболеваний, которые составляют от 40% до 49% у больных хирургического профиля [1]. Во многих

исследованиях доказано, что одним из проявлений раневого процесса является изменение баланса в системах генерации свободных радикалов и эндогенной антиоксидантной защиты, которое может являться также одной из причин неблагоприятного и осложненного течения раневого процесса. В настоящее время существует недостаток информации о состоянии прооксидантно-антиоксидантного баланса у отдельных групп пациентов с СД, что затрудняет обоснованный выбор терапии с прооксидантной или антиоксидантной направленностью [10, 11, 12].

Целью проведенного исследования явилась сравнительная оценка состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса как в периферической крови, так

и в раневом отделяемом у больных СД с острой (флегмона) и хронической (рана) хирургической инфекцией.

Материалы и методы исследования

В основу клинических исследований положены результаты обследования 61 больного, находившегося на лечении в ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского», которые были разделены на две основные группы (А1 и А2), включающие пациентов, страдающих тяжелой формой СД с СДС, и группу сравнения (К), включающую пациентов, страдающих тяжелой формой СД без СДС (табл. 1). Все обследованные были сопоставимы по возрасту и полу, различия между группами А1, А2 и группой К по указанным показателям статистически значимо не отличалась ($p > 0,05$). Все об-

следованные пациенты предоставляли добровольное согласие на участие в медицинском исследовании.

При поступлении в клинику пациентам выполнялась адекватная хирургическая обработка гнойного очага по традиционной методике. В дальнейшем осуществлялись ежедневные перевязки с санацией раны водным раствором антисептика (хлоргексидина биглюконат). Использовались повязки с мазью «Левомеколь» на протяжении всего лечения. Индивидуально для каждого пациента фиксировался момент перехода раны из гнойно-некротической в фазу грануляций (классификация фаз раневого процесса Б.М. Даценко, 1995). Средние сроки момента смены фаз в различных группах составили: в группе А1 – $12,1 \pm 0,3$ суток, в группе А2 – $10,3 \pm 0,4$ суток.

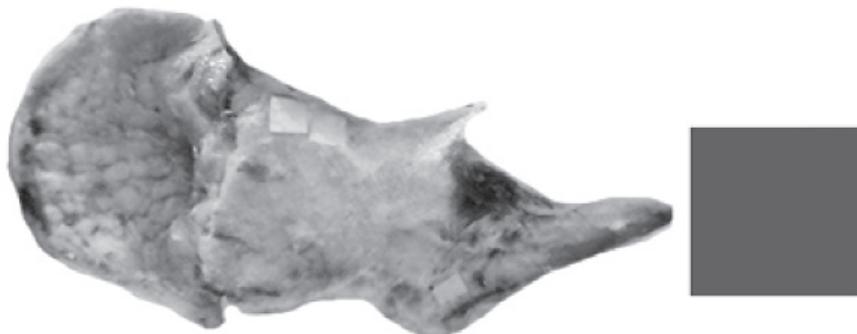
Таблица 1

Распределение обследованных пациентов по группам

Группа	Нозология	Количество
А1	Флегмона стопы на фоне СДС	20
А2	Гнойная рана стопы на фоне СДС	19
К	Пациенты, страдающие тяжелым сахарным диабетом	22
Всего	61	

Площадь раневой поверхности (рисунок) измеряли для оценки тяжести хирургической патологии при СДС на следующие сутки после проведения хирургической

обработки гнойного очага с использованием разработанного метода [7], и она составила в группе А1 $56,7 \pm 1,4$ (5,9) cm^2 , в группе А2 – $67,5 \pm 1,8$ (7,6) cm^2 .



Пример фотографии гнойной раны, подготовленной для контроля изменения ее площади в динамике раневого процесса (справа приведен условный эталон площади 25 cm^2)

Для определения показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса на системном уровне забирали кровь из вены с использованием стандартного инструментария и гепаринизировали в соотношении 1:10, после чего охлаждали до 8–10 °С. Для определения показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса на местном уровне отделяемое раны забирали по специально разработанной методике в модификации [2]. Кровь и раневое отделяемое забирали на 2, 4, 6, 8, 10, 12 и 14-е сутки от момента хирургической обработки гнойного очага.

С целью оценки состояния антиоксидантной системы (АОС) организма определяли активность каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов, уровень восстановленных тиоловых групп плазмы и антиокислительную активность (АОА) плазмы крови с помощью аперометрического метода. Активность КАТ исследовали в гемолизате эритроцитов и раневом отделяемом по методу [3], основан-

ному на оценке скорости убыли субстрата фермента (пероксида водорода). Активность СОД определяли в гемолизате эритроцитов и раневом отделяемом по методике [5], которая основана на способности СОД ингибировать индуцированную реакцию аутоокисления кверцетина. Количество тиоловых групп в плазме крови определяли модифицированным методом с использованием реактива Элмана [9]. Определение АОА плазмы крови и экссудата раны проводили амперометрическим способом [8] на анализаторе «Яуза-01-ААА», который основан на измерении электрического тока, возникающего при окислении биологического образца на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале.

Состояние прооксидантной системы оценивали в плазме крови по исходному количеству продуктов окислительной модификации биомолекул, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, а в эритроцитах определяли базальный их уровень и содержание

после предварительной индукции ионами двухвалентного железа (Fe^{2+}) с последующим расчетом тибобарбитурового числа (ТБЧ). Также в плазме крови и в экссудате раны изучали интенсивность вспышки хемилюминесценции (ВХЛ) с помощью люминотестера ЛТ-01 в составе разработанной системы лабораторной диагностики окислительного стресса [4], включающей аналогово-цифровой преобразователь и ЭВМ с авторской «Программой регистрации сигналов хемилюминотестера ЛТ-01», позволяющей регистрировать амплитуду и площадь хемилюминесценции.

Статистический анализ производился на ЭВМ с использованием свободного программного обеспечения – системы статистического анализа R (R Development Core Team, 2008, достоверным считали различие при $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе полученных результатов по отдельным показателям прооксидантно-антиоксидантного статуса на местном уровне (исследование раневого отделяемого) можно отметить следующие закономерности. У пациентов с острым гнойным процессом на фоне СД (группа А1) имеется тенденция к сохранению повышенного уровня свободнорадикального окисления (СРО), в то время как у пациентов с хроническим его течением (группа А2) особенностью является меньший уровень интенсивности и незначительная динамика свободнорадикальных процессов (СРП). Все это сопровождается развитием дисбаланса АОС на местном уровне в обеих указанных группах, особенно отчетливо проявляющегося у пациентов с острым гнойным процессом (группа А1).

Начиная со вторых суток во всех группах было отмечено снижение АОА раневого экссудата, отражающее два одновременно развивающихся процесса: снижение функциональных возможностей АОС в тканях раны и уменьшение образования раневого экссудата по мере перехода раны во вторую фазу. При этом к 14-м суткам отмечено снижение этого показателя на 47% (группа А1, $p < 0,05$) и 33,5% (группа А2).

На 2–4-е сутки во всех группах зарегистрирован наибольший уровень максимума и площади ВХЛ раневого экссудата, что является результатом активации прооксидантных систем в тканях раны в первой фазе раневого процесса как побочного эффекта интенсификации СРО при «окислительном взрыве» в фагоцитах. По мере эволюции раны на 14-е сутки отмечено снижение этих показателей на 56,2% (группа А1, $p < 0,05$) и 22,3% (группа А2).

Первоначальное снижение соотношения КАТ/СОД в раневом экссудате у пациентов с СД и гнойной раной соответствует развивающемуся на локальном уровне

дисбалансу функционирования ферментов антирадикальной защиты с преобладанием активности СОД. Отмеченная у пациентов с СД и хронической гнойной патологией динамика характеризует течение раневого процесса – затянутая первая фаза находит отражение в значительном размере плато соотношения КАТ/СОД.

С первого наблюдения отмечается снижение АОА плазмы крови у пациентов с СД: в группе А1 на 44,8% и в группе А2 на 48,2% относительно контрольных значений ($p < 0,05$). Это является следствием истощения АОС крови в результате длительной активации факторов прооксидантной направленности как ответа макроорганизма на гнойное воспаление. В группах А1 и А2 изначально показатель АОА был низок и снижение его на протяжении всего периода наблюдения отмечалось относительно медленное и с малой амплитудой. Это может быть связано с тем, что у пациентов с СД изначально отмечается дисбаланс АОС и снижение ее резервных возможностей по нейтрализации возрастающей в результате развития гнойного процесса прооксидантной нагрузки.

Описываемое во всех группах повышение максимума и площади ВХЛ плазмы крови в начале развития раневого процесса является результатом активации факторов прооксидантной направленности крови как системного ответа макроорганизма на микробную агрессию, проявляющуюся развитием флегмоны. Обращает на себя внимание, что в группах А1 и А2 изначально показатель максимума ВХЛ был выше контрольных значений на 44,8 и 48,2% соответственно ($p < 0,05$), а увеличение его в последующем периоде наблюдения происходило относительно медленно и с незначительными колебаниями. Это может быть связано с тем, что у пациентов с СД развивается эндотоксикоз, в том числе повышается концентрация в крови продуктов азотистого обмена, обладающих антиоксидантными свойствами, и снижение реактивности иммунных процессов, которое предопределяет уменьшение прооксидантной нагрузки, что детерминирует фиксацию прооксидантно-антиоксидантного баланса на более высоком уровне с тенденцией к дисбалансу в сторону прооксидантного звена.

Динамика концентрации SH-групп в плазме крови в ранние сроки течения раневого процесса отражает продолжающееся снижение емкости низкомолекулярного звена АОС, наиболее быстро реагирующего на увеличение прооксидантных факторов (минимальное значение в группе А1 составило 73,5%, в группе А2 – 60,6% от показателя

контрольной группы; $p < 0,05$). Отмечаемый в более поздние сроки прирост концентрации SH-групп является отражением регенерации этого звена АОС при снижении прооксидантной нагрузки. Низкая скорость регенерации SH-групп у пациентов, страдающих СД и имеющих патологию обмена веществ, отражает дисфункцию низкомолекулярного звена эндогенной АОС при СД.

Зарегистрированное во всех группах на 2–4-е сутки повышение ТБЧ плазмы (группа А1 на 142,9%, группа А2 на 83% от показателя контрольной группы; $p < 0,05$) и ТБЧ эритроцитов (группа А1 на 110% и группа А2 на 68,9% от показателя контрольной группы; $p < 0,05$) соответствует накоплению в плазме крови продуктов перекисного окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, и является результатом интенсификации СРП на фоне снижения функциональной активности АОС.

Отчетливое снижение активности КАТ в первые несколько суток в гемолизате эритроцитов у пациентов с гнойными ранами (в группе А1 на 39,2%, $p < 0,05$; в группе А2 – на 32,6%, $p < 0,05$ от показателя группы К) может соответствовать ингибированию этого фермента в результате накопления в крови токсических продуктов. Прирост активности КАТ в середине периода наблюдения соответствует восстановлению ее функциональной способности в результате прекращения поступления токсинов и естественной детоксикации. Динамика активности КАТ в более поздние сроки отражает восстановление защитных механизмов ферментного звена АОС у больных в результате проведения стационарного лечения и благоприятного течения заболевания.

Описываемый в начале эволюции раны рост активности СОД в гемолизате эритроцитов (в группе А1 – на 34%, в группе А2 – на 32% от показателя контрольной группы; $p < 0,05$) может соответствовать стимуляции этого фермента как звена первой линии АОС и являться адекватным ответом на усиленное образование активных форм кислорода. У пациентов групп А1 и А2 отмеченная динамика характеризует активацию СОД как фермента первой линии ферментного звена АОС в условиях нарушений метаболизма, обусловленных СД: реакции прооксидантного и антиоксидантного компонента незначительны, а колебания показателя значительно снижены.

Зарегистрированная в группах А1 и А2 динамика показателей СРО и АОС отражает как исходную тяжесть повреждения биомолекул в результате прооксидантной нагрузки, так и неспособность организма к быстрой компенсации развившегося окислительного стресса.

Необходимо отметить факт статистически значимого ($p < 0,05$) влияния площади раны на большую часть показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса, за исключением ферментов (КАТ и СОД). Влияние на уровень ВХЛ, АОА, ТБЧ плазмы и эритроцитов, количество SH-групп имеют строго определенную направленность, которая соответствует представлениям о возрастании прооксидантной нагрузки при увеличении морфологического субстрата (раневого поверхности). Напротив, активность КАТ и СОД имеет индивидуальный и варибельный характер, поэтому не удалось обнаружить прямой зависимости активности этих ферментов от площади раны.

Таким образом, показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса в экссудате раны и в крови не являются в полной мере коррелирующими между собой. При этом в процессе эволюции гнойной раны показатели АОА и ВХЛ изменяются с отчетливой взаимосвязью: динамика АОА крови и АОА экссудата раны характеризуется разнонаправленными изменениями, а динамика максимума и площади ВХЛ крови и экссудата раны отличается сходными колебаниями. В отличие от них показатели активности ферментов в крови и в экссудате раны изменяются без выраженной взаимосвязи, что связано с особенностями их синтеза, активации и ингибирования.

Выводы

В процессе эволюции гнойной раны у пациентов с СД отмечены изменения показателей прооксидантно-антиоксидантной системы, характеризующие развитие окислительного стресса, в условиях которого на ранних этапах течения раневого процесса отмечаются характерные сдвиги в сторону прооксидантного звена, которые частично стабилизируются на более поздних этапах за счет снижения прооксидантной нагрузки в ране. Также установлено, что показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови имеют прямую статистически значимую зависимость от площади раны, что определяет степень выраженности окислительного стресса.

Практический интерес представляет снижение антиокислительной активности и количества сульфгидрильных групп, а также повышение показателей хемиллюминесценции и концентрации ТБК-активных продуктов при увеличении морфологического субстрата – поверхности гнойной раны, что требует применения в клинической практике своевременных корригирующих мероприятий, включающих

использование препаратов с антиоксидантной направленностью во вторую фазу раневого процесса.

Список литературы

1. Абаев Ю.К. Раны и раневая инфекция. – Ростов-на-Дону, 2006. – С. 247.
2. Быков М.И., Павлюченко И.И., Федосов С.Р. Анализ эффективности методики «SORPTION&IMPRINTING» с целью забора биологического материала из раны для биохимического анализа. // Аллергология и иммунология. – 2007. – № 1. – С. 110.
3. Королюк М.А., Иванов Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.П. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
4. Павлюченко И.И., Басов А.А., Федосов С.Р. Система лабораторной диагностики окислительного стресса // Патент России № 54787.2006. Бюл. № 21.
5. Павлюченко И.И., Луговая И.А., Федосов С.Р., Басов А.А., Быков М.И. Активность ферментов антирадикальной защиты в эритроцитах и в раневом отделяемом у больных с осложненным течением сахарного диабета // Открытое образование. – 2006. – № 3. – С. 425–427.
6. Савченко Ю.П., Федосов С.Р., Плаксин А.М. Способ определения площади дефекта кожи и контроля ее изменений. Патент России № 2301626.2007. Бюл. № 18.
7. Федоров В.Д., Светухин А.М. Лекции по гнойной хирургии. – М., 2005. – С. 365.
8. Яшин А.Я., Яшин Я.И., Пахомов В.П., Багирова В.Л., Арзамасцев А.П., Кукес В.Г., Ших Е.В. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных веществ. Патент России № 2238554.2004. Бюл. № 15.
9. Ellman G.L. Tissuesulfhydrylgroups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
10. Faure P. Protective effects of antioxidant micronutrients (vitamin E, selenium) in type 2 diabetes mellitus // Clin Chem Lab Med. – 2003. – Vol. 41, № 8. – P. 995–998.
11. Ryan M.E. Diagnostic and therapeutic strategies for the management of the diabetic patient // Compend. Contin. Educ. Dent. – 2008. – Vol. 29, № 1. – P. 32–44.
12. Virally M., Blickle J.F., Girard J. Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutic perspectives // Diabetes Metab. – 2007. – Vol. 33, № 4. – P. 231–244.

References

1. Abaev Ju.K. Rany i ranevaja infekcija. Rostov-na-Donu, 2006. pp. 247.
2. Bykov M.I., Pavljuchenko I.I., Fedosov S.R. Analiz jeftivnosti metodiki «Sorptions&Imprinting» s celju zabora bio-

logicheskogo materiala iz rany dlja biohimicheskogo analiza // Allergologija i immunologija. 2007. no. 1. pp. 110.

3. Koroljuk M.A., Ivanov L.I., Majorova I.G., Tokarev V.P. Metod opredelenija aktivnosti katalazy // Laboratornoe delo. 1988. no. 1. pp. 16–19.

4. Pavljuchenko I.I., Basov A.A., Fedosov S.R. Sistema laboratornoj diagnostiki okislitel'nogo stressa. Patent Rossii. 2006. Bjul. no. 21.

5. Pavljuchenko I.I., Lugovaja I.A., Fedosov S.R., Basov A.A., Bykov M.I. Aktivnost fermentov antiradikal'noj zashity v jeritrocitah i v ranevom otdeljaemom u bol'nyh s oslozhnennym techeniem saharnogo diabeta // Otkrytoe obrazovanie. 2006. no. 3. pp. 425–427.

6. Savchenko Ju.P., Fedosov S.R., Plaksin A.M. Sposob opredelenija ploshhadi defekta kozhi i kontrolja ee izmenenij. Patent Rossii no. 2301626.2007. Bjul. no. 18.

7. Fedorov V.D., Svetuhin A.M. Lekcii po gnojnoj hirurgii. Moskva, 2005. pp. 365.

8. Jashin A.Ja., Jashin Ja.I., Pahomov V.P., Bagirova V.L., Arzamascev A.P., Kukes V.G., Shih E.V. Sposob opredelenija summarnoj antioksidantnoj aktivnosti biologicheski aktivnyh veshhestv. Patent Rossii no. 2238554.2004. Bjul. no. 15.

9. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. 1959. Vol. 82. pp. 70–77.

10. Faure P. Protective effects of antioxidant micronutrients (vitamin E, selenium) in type 2 diabetes mellitus. // Clin Chem Lab Med. 2003. Vol. 41, no. 8. pp. 995–998.

11. Ryan M.E. Diagnostic and therapeutic strategies for the management of the diabetic patient // Compend. Contin. Educ. Dent. 2008. Vol. 29, no. 1. pp. 32–44.

12. Virally M., Blickle J.F., Girard J. Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutic perspectives // Diabetes Metab. 2007. Vol. 33, no. 4. pp. 231–244.

Рецензенты:

Павленко С.Г., д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар;

Быков И.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 01.04.2014.