

## SOME PARAMETERS OF ENERGY METABOLISM IN PATIENTS DURING RECONSTRUCTIVE VASCULAR SURGERY

PECHAN I, HOLOMAN M, ZAHOREC R, RENDEKOVA V, KALNOVICOVA T, HOLA J, HALCAK L

### NIEKTORÉ PARAMETRE ENERGETICKÉHO METABOLIZMU U PACIENTOV POČAS CIEVNEHO REKONŠTRUKČNÉHO CHIRURGICKÉHO VÝKONU

#### Abstract

**Pechan I, Holoman M, Zahorec R, Rendekova V, Kalnovicova T, Hola J, Halcak L:**  
Some parameters of energy metabolism in patients during reconstructive vascular surgery  
Bratisl Lek Listy 1999; 100 (8): 439–444

Revascularization surgery in patients with peripheral arterial occlusive disease presents an acceptable clinical model for studying the rate of ischaemia-reperfusion injury of cells and other structures of skeletal muscle of the affected extremity. Validity of carefully chosen set of biochemical parameters for determination of this injury during and after surgery as well as in the early and late reperfusion periods and during the readaptation to situation after restoration of blood circulation was verified. Blood samples were taken from the regional common femoral vein which allowed to obtain information directly from the ischaemized extremity. Analyzed biochemical parameters have given useful information about the situation in acid-base regulation, in energy metabolism as well as antioxidant capacity. These parameters were estimated in four time intervals: before aorta cross-clamping (preischaemic phase), then 30 min (early reperfusion) and 18 hours (readaptation period) after aorta-declamping. In the early reperfusion period a marked acidosis and rised carbon dioxide tension, significant increase of lactate and pyruvate levels as well as increased hypoxanthine plasma level were observed. On the contrary, in this period the lowest lipoperoxide level was found, evident in the wake of relative stability of concentration of endogenous antioxidants documented by a constant glutathione redox status that at the first postoperative day even significantly decreased as a consequence of a drop of oxidized and increased of reduced form of glutathione. Therefore, the applied biochemical parameters allow to monitor the ischaemia-reperfusion damage of afflicted region and could be used

#### Abstrakt

**Pechán I., Holomán M., Záhorec R., Rendeková V., Kalnovičová T., Holá J., Halčák L.:**  
Niektoré parametre energetického metabolizmu u pacientov počas cievného rekonštrukčného chirurgického výkonu  
Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 8, s. 439–444

Chirurgický revaskularizačný výkon u pacientov s periférnou artériovou obliterujúcou chorobou je vhodný klinický model pre štúdium stupňa ischemicko-reperfúzneho poškodenia buniek a ďalších štruktúr kostrového svalstva postihnutej končatiny. Overila sa výpovedná hodnota cielene zvolenej palety biochemických parametrov pri určovaní tohto poškodenia počas operačného výkonu aj v období skorej a neskorej reperfúzie a v období readaptácie pacienta na situáciu, ktorá nastala po obnovení cirkulácie krvi postihnutými oblasťami. Krvné vzorky sa odoberali z regionálnej a. femoralis communis, čím sa umožnilo získať informácie o pomeroch priamo v ischémii postihnutej dolnej končatine. Sledované biochemické parametre sa zamerali na zhodnotenie acidobázickej regulácie, niektoré ukazovatele energetického metabolizmu, ako aj antioxidačnej kapacity. Parametre sa určovali v štyroch časových intervaloch: pred naložením svorky na aortu (predischemická fáza) a 30 min (skorá reperfúzia), 2 h (neskorá reperfúzia) a 18 h (obdobie readaptácie) po jej uvoľnení. Výsledky ukázali výraznú acidózu a vysokú tenziu oxidu uhličitého, výrazné narastanie hladín laktátu a pyruvátu, ako aj hypoxantínu v období skorej reperfúzie. V tomto období sa naopak zistila najnižšia hladina markera lipoperoxidácie zrejme v dôsledku stability hladín endogénnych antioxidantov, o čom svedčí stály glutatiónový redoxný status, ktorý v prvý pooperačný deň dokonca významne klesol znížením oxidovaného a stúpnutím redukovaného glutatiónu. Použité biochemické parametre dovoľujú monitorovať ischemicko-reperfúzne zaťaženie postihnutej oblasti a dali by sa využiť aj pri sledovaní látok, ktoré by mohli mať

Slovak Institute of Cardiovascular Diseases, Bratislava, St. Elizabeth's Institute of Oncology, Bratislava, and Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

**Address for correspondence:** I. Pechan, MD, DSc, Slovak Institute of Cardiovascular Diseases, Pod Krasnou horkou 1, SK-833 48 Bratislava, Slovakia.

Phone: +421.7.5932 0327, Fax: +421.7.5478 8740

Slovenský ústav srdcových a cievnych chorôb v Bratislave, Onkologický ústav sv. Alžbety v Bratislave a Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave

**Adresa:** Prof. MUDr. I. Pechán, DrSc., Slovenský ústav srdcových a cievnych chorôb, Pod Krásnou hôrkou 1, 833 48 Bratislava.

even in the study of compounds with a protective effect against possible injury of ischaemized and reoxygenized tissues. (Tab. 3, Fig. 4, Ref. 32.)

**Key words:** reconstructive vascular surgery, biochemical markers, parameters of acid-base regulation, parameters of energy metabolism, antioxidant status.

Náročnejšie a dlhotrvajúce chirurgické výkony, pri ktorých dochádza k ischemizácii orgánov alebo tkanív, sú obyčajne späté s rozvojom ischemicko-reperfúzneho syndrómu. Tento klinicky relatívne dobre charakterizovaný stav môže často viesť k reverzibilnému aj ireverzibilnému poškodeniu buniek postihnutého tkaniva, a preto predstavuje možné život ohrozujúce fenomény, ktoré spočívajú v poškodení mikrocirkulácie, hemorágiách a v bunkovej smrti. Menej sa vie o exaktných patogenetických mechanizmoch tohto syndrómu. Uvažuje sa o vplyve kyslíkového, vápnikového a pH paradoxu, ako aj o pôsobení reaktívnych foriem kyslíka a ich metabolitov a známa je aj hypotéza o úbytku fosfolipidov zo sarkolemy (Šochman, 1998). Dôležitým faktorom je aj aktivácia cirkulujúcich neutrofilných leukocytov a ich lokalizovaná adhézia na endotelové bunky (Hernandez a spol., 1987; Paluly a spol., 1992).

Ischemicko-reperfúzny syndróm predstavuje významné ohrozenie organizmu pacienta aj pri náročnejších rekonštrukčných výkonoch v cievnej chirurgii. Klasickým príkladom je ischemizácia a nasledujúca reperfúzia dolnej končatiny pacienta pri aorto-bifemorálnom bypasse, ktorý sa zvolil za model pre štúdium ischemicko-reperfúzneho zafarbenia organizmu, najmä však kostrového svalstva postihnutej nohy pomocou cielene zvolených biochemických parametrov. Na rozdiel od predchádzajúcej práce (Holomáň a spol., 1995) sme sa v tejto práci zamerali najmä na také parametre, ktoré by informovali o stave energetického metabolizmu, produkcii reaktívnych foriem kyslíka (hladiny reprezentantov lipoperoxidácie — látok reagujúcich s kyslinou 2-tiobarbiturovou), ako aj o stave antioxidantnej kapacity — koncentrácii redukovaného a oxidovaného glutatiónu vo vzorkách krvi odobranej z regionálnej veny ischemizovanej dolnej končatiny. V týchto krvných vzorkách sa určovali aj jednotlivé medziprodukty degradácie purínových nukleotidov, ktoré poskytujú dobrý prehľad o stave energetického metabolizmu (Zucchi a spol., 1990).

#### Pacienti a metódy

Klinický experiment sa uskutočnil v skupine pacientov s chronickým ischemickým syndrómom (periférna arteriálna okluzívna choroba), ktorí podstúpili náročný rekonštrukčný cievny výkon (aorto-bifemorálny bypass s Y-dakrónovou protézou). Chirurgický výkon uskutočnil rovnaký operačný tím chirurgov za štandardných podmienok a pri štandardnej premedikácii a perioperačnej medikamentózneho ochrane pacienta. Súbor pacientov a základné údaje o chirurgickom výkone sú v tabuľke 1.

Pacienti pred revaskularizačným výkonom dostali štandardnú opioidnú premedikáciu, boli systematicky heparinizovaní (5000—10 000 m.j. podľa telesnej hmotnosti). Celková anestézia sa viedla kombináciou neuroleptoanalgézie a myorelaxácie, ventilácia prístrojom Dräger (model Cato) pri  $FiO_2 = 0,4$ . Pacienti boli permanentne monitorovaní (arteriálny a centrálny venózný tlak — mo-

protektívny efekt proti poškodeniu ischemizovaných a reoxygenovaných tkanív. (Tab. 3, obr. 4, lit. 32.)

**Kľúčové slová:** rekonštrukčný cievny výkon, biochemické markery, parametre acidobázickej regulácie, parametre energetického metabolizmu, antioxidantný status.

**Tab. 1. Patients and operative data.**

**Tab. 1. Súbor pacientov a údaje o priebehu chirurgického výkonu.**

Patients (n)	11 (1 female)
Pacienti	
Age (years)	54,8 (38—64)
Vek (roky)	
Fontaine's classification	IIb—III
Klasifikácia podľa Fontaineho	
Duration of surgery (min)	228 (196—248)
Trvanie operácie	
Leg ischaemia (min)	40,8 (35—49)
Ischémia dolnej končatiny	

nitor Hewlett-Packard, model 54 S). Podrobné údaje o vlastnom chirurgickom výkone uvádzame v predchádzajúcej práci (Holomáň a spol., 1999). Štúdia bola schválená Etickou komisiou Slovenského ústavu srdcových a cievnych chorôb v Bratislave.

#### Biochemické parametre

V zvolených časových intervaloch počas a po operačnom výkone (tab. 2) sa odoberali krvné vzorky z regionálnej v. femoralis communis (z ischemizovanej a následne reperfundovanej dolnej končatiny). Krvné vzorky sa odoberali do skúmaviek obsahujúcich lítiovú soľ heparínu.

V krvných vzorkách sa určovali tieto parametre:

— základné parametre krvných plynov a acidobázickej regulácie (pH,  $p_vCO_2$ ,  $p_vO_2$ , saturácia hemoglobínu kyslíkom —  $S_vO_2$ ,  $HCO_3^-$ ) (Blood Gas Analyzer AVL 995),

**Tab. 2. Schedule of blood sampling from the regional common femoral vein.**

**Tab. 2. Harmonogram odberu krvných vzoriek s regionálnej v. femoralis communis.**

A — before aorta cross-clamping pred naložením svorky na aortu	preischaemic period predischemická fáza
B — 30 min after aorta declamping 30 min po uvoľnení svorky	early reperfusion skorá reperfúzia
C — 2 hrs after aorta declamping 2 h po uvoľnení svorky	late reperfusion neskorá reperfúzia
D — 20 hrs after aorta declamping 20 h po uvoľnení svorky	readaptation period readaptačná fáza

**Tab. 3. Parameters of acid-base regulation in regional venous blood of patients during and after reconstructive vascular surgery.****Tab. 3. Parametre acidobázickej regulácie v regionálnej venózne krvi u pacientov počas cievného rekonštrukčného výkonu a po ňom.**

	A	B	C	D
pH	7,39 0,014	7,33 0,017	7,24 <sup>a</sup> 0,010	7,37 0,011
p <sub>i</sub> O <sub>2</sub> (mmHg)	38,7 3,880	40,5 2,593	33,8 3,482	39,7 4,544
S <sub>i</sub> O <sub>2</sub> (%)	66,2 6,687	68,4 3,819	53,7 8,076	69,4 5,687
p <sub>i</sub> CO <sub>2</sub> (mmHg)	37,4 2,058	40,1 2,092	52,7 <sup>a</sup> 2,899	39,7 <sup>b</sup> 0,703
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	21,7 1,013	20,5 0,846	21,8 0,927	22,6 0,830

Statistically significant difference: <sup>a</sup> between A and C with p<0.05 and <sup>b</sup> between C and D with p<0.01

Štatisticky významný rozdiel: <sup>a</sup> medzi A a C s p<0,05 a <sup>b</sup> medzi C a D s p<0,01

— laktát (diagnostická súprava Boehringer—Mannheim) a pyruvát (súprava Sigma Chemicals) v krvnej plazme, redukovaný (GSH) a oxidovaný (GSSG) glutatión (Adams a spol., 1983) vo vzorkách celej krvi. Zo zistených koncentrácií oboch foriem glutatiónu sa vypočítal jeho redoxný pomer (GSSG:/GSH+GSSG/x100) (Shan a spol., 1990),

— metabolity degradácie purínových nukleotidov — po depoteinácii vzoriek krvnej plazmy kyselinou chloristou vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) s UV detekciou (254 nm) na sorbente Separon SGX C 18 a s elučným roztokom primárneho fosforečnanu draselného (60 mmol/l) (pH 4,7) (Kalnovičová a Turčáni, 1992),

— látky reagujúce s kyselinou 2-tiobarbiturovou na základe hladín reprezentanta lipoperoxidácie malondialdehydu (Uchiyama a Mihara, 1978).

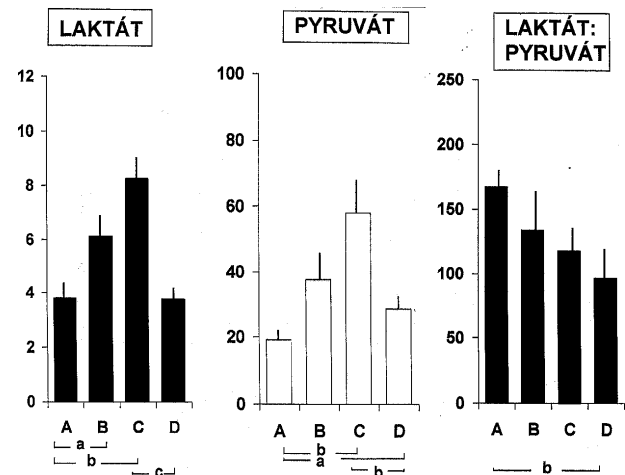
### Štatistické vyhodnotenie

Dosiahnuté výsledky sa uvádzajú ako aritmetické priemery jednotlivých nameraných hodnôt a ich stredné chyby. Rozdiely medzi hodnotami nameranými v rôznych časových intervaloch sa porovnali párovým Studentovým t-testom pomocou štatistického programu Harvard-StatGraphics.

### Výsledky

#### Parametre krvných plynov

Je pozoruhodné, že väčšina sledovaných parametrov sa najvýraznejšie zmenila v skorej reperfúzne fáze — 2 h po uvoľnení svorky naloženej na aortu. V tomto období došlo k významnému zvýšeniu parciálneho tlaku oxidu uhličitého (pCO<sub>2</sub>), pričom práve v tomto období dosahovali svoje minimum namerané hodnoty pH regionálnej venózne krvi (tab. 3). Súčasne došlo v týchto krv-



**Fig. 1. Levels of lactate (mmol/l), pyruvate (μmol/l) and the lactate:pyruvate ratio in individual sampling intervals (see Tab. 2). Statistical significance: a — p<0.05, b — p<0.01, c — p<0.001.**

**Obr. 1. Hladiny laktátu (mmol/l), pyruvátu (μmol/l) a pomer laktátu k pyruvátu v jednotlivých odberových intervaloch (pozri tab. 2). Štatistická významnosť: a — p<0,05, b — p<0,01, c — p<0,001.**

ných vzorkách aj k nevýznamnému zníženiu saturácie hemoglobínu kyslíkom (SO<sub>2</sub>) a parciálneho tlaku kyslíka (pO<sub>2</sub>). Prvý pooperačný deň všetky tieto parametre dosahovali prakticky už hodnoty namerané v predischemickej fáze operácie.

#### Parametre energetického metabolizmu

Hladina laktátu v regionálnej venózne krvi reagovala na operačný výkon svojím zvýšením už krátko po uvoľnení svorky naloženej na aortu a dosahovala svoje maximum po 2 h. Potom nasledoval pokles hladín tohto metabolitu a na prvý pooperačný deň sme už nenašli rozdiel oproti hodnotám nameraným pred naložením svorky na aortu operovaného. Podobne — nie však tak významne — stúpali hladiny pyruvátu. Tento rozdiel sa prejavil postupným poklesom pomeru medzi hladinami oboch sledovaných metabolitov, ktorý dosiahol významný rozdiel oproti hodnotám nameraným v predischemickej fáze až v prvý pooperačný deň (obr. 1).

Pozoruhodné výsledky prinieslo sledovanie hladín degradačných produktov purínových nukleotidov. Hladina hypoxantínu — po mierne, ale významnom vzostupe 30 min po odkľomovaní aorty — začala v neskoršom reperfúznom období výrazne klesať, pričom rozdiel medzi hladinami tohto metabolitu 30 min po uvoľnení svorky naloženej na aortu a hodnotami v prvý pooperačný deň bol viac ako 100 %. Rovnako sa správali hladiny xantínu: popri prakticky nezmenejších hodnotách pred a tesne po uvoľnení svorky naloženej na aortu začala hladina tohto metabolitu výrazne klesať a dosiahla najnižšiu hodnotu v prvý pooperačný deň. Nezistili sme však výraznejšie zmeny v hladinách inozínu a kyseliny močovej (obr. 2).

#### Tvorba lipoperoxidov a antioxidačný status

Hladina látok reagujúcich s kyselinou tiobarbiturovou (TBARS) bola najvyššia v období tesne pred naložením svorky na aortu a potom postupne klesala s minimom 2 h po otvorení aorty (obr. 3). Nevýrazne sa správali hladiny glutatiónu určené v jednotlivých

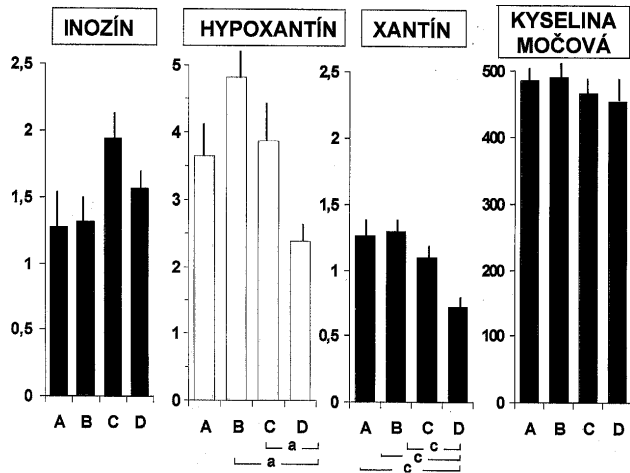


Fig. 2. Levels of inosine, hypoxanthine, xanthine and uric acid ( $\mu\text{mol/l}$ ) in individual sampling intervals (see Tab. 2). Statistical significance: a —  $p < 0.05$ , b —  $p < 0.001$ .  
Obr. 2. Hladiny inozínu, hypoxantínu, xantínu a kyseliny močovej ( $\mu\text{mol/l}$ ) v jednotlivých odberových intervaloch (pozri tab. 2). Štatistická významnosť: a —  $p < 0,05$ , b —  $p < 0,001$ .

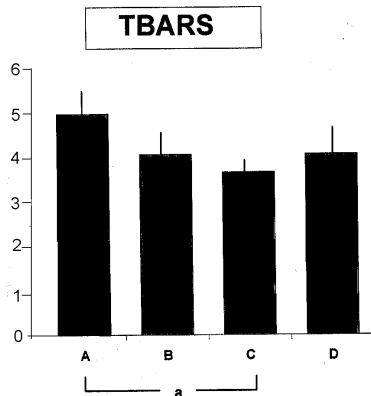


Fig. 3. Levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (calculated on malondialdehyde concentration) ( $\text{ng/l}$ ) in individual sampling intervals (see Tab. 2). Statistical significance: a —  $p < 0.05$ .  
Obr. 3. Hladiny látok reagujúcich s kyselinou tiobarbiturovou (TBARS) (prepočítané na koncentráciu malondialdehydu) ( $\text{ng/l}$ ) v jednotlivých odberových intervaloch (pozri tab. 2). Štatistická významnosť: a —  $p < 0,05$ .

odberových intervaloch vo vzorke celej krvi: hladiny redukovaného glutatiónu sa začali zvyšovať až vo vzorke odobranej v prvý pooperačný deň, keď dosiahla svoje minimum aj hladina oxidovaného glutatiónu, čo sa prejavilo významným zvýšením pomeru medzi oboma formami tohto tripeptidu (obr. 4).

#### Diskusia

Klinický model ischemicko-reperfúzneho poškodenia kostrového svalstva, ktoré nastáva pri elektívnych chirurgických výko-

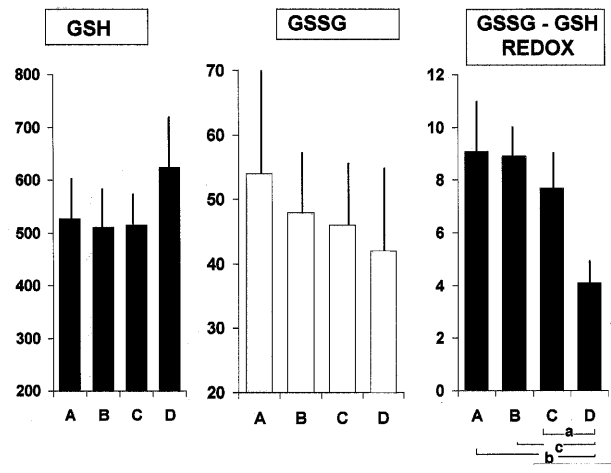


Fig. 4. Levels of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione as well as GSSG-GSH redox ratio in individual sampling intervals (see Tab. 2). Statistical significance: a —  $p < 0.05$ , b —  $p < 0.01$ , c —  $p < 0.001$ .  
Obr. 4. Hladiny redukovaného (GSH) a oxidovaného (GSSG) glutatiónu, ako aj glutatiónový redoxný pomer (GSSG-GSH redox) v jednotlivých odberových intervaloch (pozri tab. 2). Štatistická významnosť: a —  $p < 0,05$ , b —  $p < 0,01$ , c —  $p < 0,001$ .

noch spojených s revaskularizáciou dolných končatín, sa využíva pre sledovanie tohto aktuálneho a patogeneticky ešte kompletne neobjasneného fenoménu už viac rokov (Eklof a spol., 1981; Friedl a spol., 1990; Formigli a spol., 1992; Mathru a spol., 1996) a využil sa aj na našom pracovisku v predchádzajúcich štúdiách (Holomán a spol., 1995, 1996).

Základné parametre acidobázickej regulácie ukázali, že v reperfúznom období dochádza k acidóze a k retencii oxidu uhličitého v tkanive kostrového svalstva. V podstate to potvrdzuje doterajšie poznatky o tomto fenoméne, ktoré uvádzajú Harris a spol. (1986) a Hoch a spol. (1991). V súlade s našimi predchádzajúcimi štúdiami sa najintenzívnejšia acidóza aj najnižšie hodnoty parciálneho tlaku oxidu uhličitého pozorovali 2 h po začiatku úspešnej reperfúzie postihnutej dolnej končatiny (Holomán a spol., 1999). Na druhý deň po rekonštrukčnom výkone boli však všetky sledované parametre už v oblasti referenčných hodnôt.

Ischémiou vyvolaná acidóza tkaniva je dôsledkom najmä štiepenia vysokoenergetických fosfátov a anaeróbnej glykolýzy. Už dávnejšie je známe, že mierny stupeň acidózy nemusí mať pre tkanivo iba negatívne dôsledky, ale môže mať v ischemizovanom tkanive ochranný efekt (Bing a spol., 1973). Neskoršie štúdie ukázali, že mierna acidóza tkaniva má výrazný šetriaci vplyv týkajúci sa zásob energeticky bohatých látok, najmä ATP, a to zásluhou zabezpečenia funkčnosti membránových transportných systémov, ktoré pri hodnotách pH blízky 7,0 po niekoľko desiatok minút dokážu udržať dostatočný transmembránový protónový gradient (Koop a Piper, 1992).

V skorej reperfúznej perióde vrcholila aj hladina laktátu a pyruvátu v regionálnej venóznej krvi operovaných pacientov. Akumulácia laktátu a protónov v tkanive sa dlho pokladala za jednu z príčin ireverzibilného ischemického poškodenia (Neely a Grottyhann, 1984). Neskôr sa ukázalo, že ischemizáciu vznikajúca laktacidóza môže mať protektívny účinok voči ischemicko-reperfúznemu poškodeniu tkaniva. Na rozhraní tohto desaťročia Geis-

buhler a Rovetto (1990) na izolovaných kardiomyocytoch zistili, že ani vysoké koncentrácie laktátu nezvyšovali straty tkanivových nukleotidov a nepôsobili výraznejšie morfológické poškodenie sledovaných bunkových kultúr. Práce ďalších autorov ukázali, že zvýšenie hladiny laktátu chráni pečenevé bunky pred toxickým vplyvom oxidantov zvyšovaním množstiev NADH (Kowalski a spol., 1992), ba dokonca  $H^+$  uvoľňované z hromadiaceho sa laktátu uľahčujú disociáciu oxyhemoglobínu v tkanive kostrového svalu po namáhavom cvičení (Stringer a spol., 1994). Acidifikácia femorálnej venózne krvi laktátom umožňuje pokračovanie extrakcie kyslíka udržiavaním potrebného hacieho tlaku medzi kapilármi a mitochondriami bunky. Znamená to, že akumulácia laktátu je zrejme esenciálna pre narastajúci transport kyslíka do kostrového svalu (Stringer a spol., 1994).

Viacero autorov tvrdí, že sledovanie vylučovania degradačných produktov purínových nukleotidov v poischemickej reperfúzne fáze môže relatívne objektívne informovať o stave hlavných energetických rezerv v bunkách tkaniva, ktoré sa nachádzalo rôzne dlho v ischémii (Eklund a spol., 1991; Zucchi a spol., 1990). Počas ischémie sa v kostrovom svale adenozínofosfát (AMP) prevažne deaminuje na inozínofosfát (IMP) v dôsledku aktivácie AMP-deaminázy vyvolanej bunkovou acidózou a zvýšenou premenou ATP späť s nízkou koncentráciou kreatínofosfátu (Dudley a Terjung, 1985; Soussi a spol., 1990). Hromadiaci sa IMP môže mať významnú úlohu pri obnove ischémii vyplienených zásob adenínových nukleotidov svojou premenou na AMP (Soussi a spol., 1993). Pri dlhšie trvajúcej ischémii sa však IMP rýchlo defosforyluje na inozín, ktorý sa ďalej mení na hypoxantín a xantín. Koncové metabolity sa rýchlo uvoľňujú do extracelulárneho priestoru a prenikajú do krvného riečiska, kde ich určenie môže poskytnúť obraz o stave zásob adenínových nukleotidov v tkanive.

V našom klinickom modeli sme pozorovali významné stúpnutie hladiny hypoxantínu v skorom reperfúznom období, potom došlo k jej rýchlemu poklesu až k návratu k pôvodným hodnotám. Nenašli sme teda dramatické niekoľkonásobné zvýšenie hladiny tohto purínového degradačného metabolitu, ktoré — ako odraz anaeróbného metabolizmu pri ischémii — uvádza viacero autorov v kostrovom svale aj v myokarde a ďalších orgánoch a tkanivách, ktoré boli vystavené ischémii (Soussi a spol., 1993). Z možných faktorov, ktoré by mohli vysvetliť uvedené diskrepancie prichádzajú do úvahy minimálne tri: intenzita ischémie pri revaskularizačnom výkone nebola taká, aby výraznejšie „vyprázdnila“ energetické zdroje postihnutej kostrového svalu, významnú úlohu tu môže mať súvislosť často uvádzaná porucha mikrocirkulácie ischemizovanou oblasťou, v ktorej sa rekonštrukčným výkonom obnovila reperfúzia (tzv. „no-reflow phenomenon“) (Menger a spol., 1992; Friesenecker a spol., 1994), a odbory vzoriek sa robili v menej vhodných časových intervaloch, a to vtedy, keď už podstatná časť purínových degradačných produktov bola z postihnutej oblasti krvou vyplavená. Z uvedených možností je pravdepodobnejšia posledná z nich. Toto sa týka aj hladín ďalších degradačných produktov — inozínu, xantínu a kyseliny močovej.

Napriek tomu, že kostrový sval je relatívne rezistentný oproti ischémii, jeho niekoľkohodinová ischemizácia vedie k ireverzibilnému poškodeniu myocytov (Colburn a spol., 1992). Toto poškodenie sa prehlbuje pri reperfúzii, pri ktorej má významnú úlohu zvýšená produkcia reaktívnych foriem kyslíka a klesajúca antioxidantná kapacita buniek postihnutej oblasti tkaniva (Shan a spol.,

1990). Náhle zvýšenie produkcie reaktívnych foriem kyslíka nastáva v krátkom časovom úseku po obnovení recirkulácie postihnutej dolnej končatiny (Holomán a spol. 1995, 1999), čo môže vysvetliť fakt, že sme 30 min po odstránení svorky z aorty nezistili významné zvýšenie hladiny TBARS v regionálnej venózne krvi. V porovnaní s hladinami pred naložením svorky na aortu ich množstvo v neskoréj reperfúzne fáze bolo dokonca výrazne nižšie. Znižovanie hladín TBARS ako reprezentantov lipoperoxidácie je zrejme vyvolané aj relatívne dobrými rezervami endogénnych antioxidantných pôsobiacich látok, čomu nasvedčuje hladina redukovaného glutatiónu v krvi regionálnej femorálnej veny. Koncentrácia tohto významného vnútrubunkového antioxidantu sa dokonca v prvý pooperačný deň začala zvyšovať pri postupne klesajúcich hladinách jeho oxidovanej formy, čím došlo k jednoznačnému poklesu glutatiónového redoxného statusu v prvý pooperačný deň. K tomuto záveru nás oprávňujú viaceré štúdie, v ktorých sa pomer medzi oxidovanou a redukovanou formou glutatiónu považuje za citlivý marker oxidačného stresu odohrávajúceho sa v bunkách organizmu (Shan a spol., 1990; Németh a Boda, 1994; Laaksonen a spol., 1999).

Záverom možno konštatovať, že klinický model ischemicko-reperfúzneho syndrómu využívajúci rutinný cievny rekonštrukčný chirurgický výkon ukázal možnosť neinvazívneho monitorovania zaťaženia pacienta aj po výkone pomocou vhodne volenej palety biochemických parametrov. Po vhodnejšom usporiadaní odberových intervalov by sa uvedený súbor biochemických parametrov dal použiť na prípadné monitorovanie ochranného pôsobenia zvolených prirodzených alebo syntetických protektív.

## Literatúra

- Adams J.D., Lauterburg B.H., Mitchell J.R.:** Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat. Regulation and response to oxidative stress. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 227, 1983, s. 749—754.
- Bing O.H.L., Brooks W.W., Messer J.V.:** Heart muscle viability following hypoxia: protective effect of acidosis. *Science*, 180, 1973, s. 1297—1298.
- Colburn M.D., Quinones-Barich W.J., Gelabert H.A. a spol.:** Standardization of skeletal muscle injury. *J. Surg. Res.*, 52, 1992, s. 309—313.
- Dudley G.A., Terjung R.L.:** Influence of acidosis on AMP deaminase activity in contracting fast-twitch muscle. *Amer. J. Physiol.*, 248, 1985, s. C43—C50.
- Eklöf B., Neglen P., Thompson D.:** Temporary incomplete ischemia of the legs induced by aortic clamping in man. *Ann. Surg.*, 193, 1981, s. 89—98.
- Eklund T., Wahlberg J., Ungerstedt U., Hillered L.:** Interstitial lactate, inosine and hypoxanthine in rat kidney during normothermic ischaemia and recirculation. *Acta physiol. scand.*, 143, 1991, s. 279—286.
- Friedl H.P., Smith D.J., Till G.O. a spol.:** Ischemia-reperfusion in humans. *Amer. J. Pathol.*, 136, 1990, s. 491—495.
- Friesenecker B., Tsaai A.G., Intaglietta M.:** Capillary perfusion during ischemia-reperfusion in subcutaneous connective tissue and skin muscle. *Amer. J. Physiol.*, 267, 1994, s. H2204—H2212.
- Geisbuhler T.P., Rovetto M.J.:** Lactate does not enhance anoxia/reoxygenation damage in adult rat cardiac myocytes. *J. mol. cell. Cardiol.*, 22, 1990, s. 1325—1335.

- Harris K., Walker P.M., Mickle D.A.G. a spol.:** Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Amer. J. Physiol.*, 250, 1986, s. H213–H220.
- Hernandez L.A., Grisham M.B., Twohig B. a spol.:** Role of neutrophils in ischemia/reperfusion-induced microvascular injury. *Amer. J. Physiol.*, 253, 1987, s. H699–H703.
- Hoch J.R., Stevens R.P., Keller M.P., Silver D.S.:** Recovery of neuromuscular function during reperfusion of ischemic extremity. Effect of mannitol and superoxide dismutase. *Surgery*, 110, 1991, s. 656–663.
- Holomán M., Záhorec R., Kusý J., Pecháň I.:** Biochemical monitoring in patients during revascularization surgery. *Vasa*, 24, 1995, s. 23–28.
- Holomán M., Záhorec R., Rendeková V., Pecháň I.:** Vitamin E for skeletal muscle protection against reperfusion injury during elective revascularization surgery (biochemical and clinical assessment). *Cor Vasa*, 41, 1999, s. 78–83.
- Kalnovičová T., Turčáni P.:** Stanovenie kyseliny močovej hypoxantínu a xantínu v cerebrospinálnom likvore. *Biochem. clin. Bohemoslov.*, 21, 1992, s. 241–248.
- Koop A., Piper H.M.:** Protection of energy status of hypoxic cardiomyocytes by mild acidosis. *J. mol. cell. Cardiol.*, 24, 1992, s. 55–65.
- Kowalski D.P., Aw T.Y., Park Y., Jones D.P.:** Postanoxic oxidative injury in rat hepatocytes: Lactate-dependent protection against tert-butylhydroperoxide. *Free Radic. Biol. Med.*, 12, 1992, s. 205–212.
- Laaksonen D.E., Atalay M., Niskanen L. a spol.:** Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care*, 19, 1996, s. 569–574.
- Mathru M., Dries D.J., Barnes L. a spol.:** Tourniket-induced exsanguination in patients requiring lower limb surgery. An ischemia-reperfusion model of oxidant and antioxidant metabolism. *Anesthesiology*, 84, 1996, s. 14–22.
- Menger M.D., Pelikan S., Steiner D., Messmer K.:** Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle. Significance of “reflow paradox”. *Amer. J. Physiol.*, 263, 1992, s. H1901–H1906.
- Neely J.R., Grotyohann L.W.:** Role of glycolytic products in damage to ischemic myocardium. Dissociation of adenosine triphosphate levels and recovery of function of reperfused ischemic hearts. *Circulat. Res.*, 55, 1984, s. 816–824.
- Nemeth I., Boda D.:** Blood glutathione redox ratio as a parameter of oxidative stress in premature infants with IRDS. *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 1994, s. 347–353.
- Palluy O., Morliere L., Gris J.C. a spol.:** Hypoxia/reoxygenation stimulates endothelium to promote neutrophil adhesion. *Free Radic. Biol. Med.*, 13, 1992, s. 21–30.
- Shan X., Aw T.Y., Shapira R., Jones D.P.:** Oxygen dependence of glutathione synthesis in hepatocytes. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 101, 1989.
- Shan X., Aw T.Y., Jones D.P.:** Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmac. Ther.*, 47, 1990, s. 61–71.
- Soussi B., Idstrom J.P., Scherstén T., Bylund-Fellenius A.C.:** Dynamics of skeletal muscle energetics during ischemia and reperfusion assessment by in vivo <sup>31</sup>P NMR. *NMR Biomed.*, 3, 1990, s. 71–77.
- Soussi B., Lagerwall K., Idstrom J.P., Scherstén T.:** Purine metabolic pathways in rat hindlimb perfusion model during ischemia and reperfusion. *Amer. J. Physiol.*, 265, 1993, s. H1074–H1081.
- Stringer W., Wasserman K., Casaburi R. a spol.:** Lactic acidosis as a facilitator of oxyhemoglobin during exercise. *J. appl. Physiol.*, 76, 1994, s. 1462–1467.
- Šochman J.:** Ischemické a reperfuční poškození myokardu. *Cor Vasa*, 40, 1998, s. 38–48.
- Tribble D.L., Jones D.P.:** Oxygen dependence of oxidative stress. *Biochem. Pharmacol.*, 39, 1990, s. 729–736.
- Uchiyama M., Mihara M.:** Determination of malondialdehyde precursors in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, 86, 1978, s. 271–278.
- Zucchi R., Limbruno U., Poddighe R. a spol.:** Purine release from isolated rat heart. A new approach to the study of energy metabolism. *J. mol. cell. Cardiol.*, 22, 1990, s. 815–826.

Received April 24, 1999.

Accepted July 9, 1999.