

Wpływ kastracji chirurgicznej na zawartość końcowych produktów nadtlaniania lipidów w surowicy

Influence of surgical castration on serum levels of the lipid peroxidation end-products

Leszek Janeczek², Tomasz Paszkowski¹, Ewa Baszak¹, Krzysztof Lutnicki³, Radosław Rola³, Ewa Szpringer-Bogun³

U 40 kobiet w wieku przedmenopauzalnym, u których wykonano histerektomię wraz z obustronną salpingooforektomią, oznaczono tuż przed operacją oraz w 2 dobie pooperacyjnej zawartość dialdehydu malonowego w surowicy krwi metodą detekcji substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym. W 48 godz. po kastracji chirurgicznej zaobserwowano wysoce znamienne wzrost intensywności nadtlaniania lipidów ($p < 0,001$). Uzyskane wyniki badań sugerują, iż we wczesnym okresie pooperacyjnym po menopauzie chirurgicznej powstają warunki sprzyjające rozwojowi stresu oksydacyjnego

Słowa kluczowe: kastracja chirurgiczna, nadtlanianie lipidów, stres oksydacyjny

(Przegląd Menopauzalny 2002; 1: 33–37)

Jednym z najważniejszych biologicznie procesów wolnorodnikowych jest peroksydacja lipidów [26]. Celem reakcji nadtlaniania są wielonienasycone kwasy tłuszczowe czyli lipidy posiadające co najmniej 3 podwójne wiązania kowalენტne między atomami węgla. Siła wiązania C-H w sąsiednich atomach węgla jest w takiej konfiguracji osłabiona, co ułatwia oderwanie atomu wodoru od cząsteczki [15]. Peroksydacja lipidów ma charakter procesu lawinowego, w przebiegu którego wyróżnia się 3 etapy: inicjację, propagację i terminację [23].

Strukturami komórkowymi szczególnie narażonymi na uraz oksydacyjny, są fosfolipidowe błony komórkowe zawierające duże ilości wielonienasyconych reszt

kwasów tłuszczowych [4]. W rezultacie peroksydacyjnej degradacji fosfolipidów dochodzi do zmian charakterystyki fizykochemicznej błon cytoplazmatycznych w postaci spadku płynności oraz wzrostu ich przepuszczalności [8]. Zmiany te prowadzić mogą do rozprężnięcia transportu przez błonowego w obrębie komórki. Peroksydacja lipidów może również zmieniać antygenowy charakter błon cytoplazmatycznych komórki. Innym przykładem modyfikacji oksydacyjnej lipidów o ogromnym znaczeniu patogenetycznym w procesie aterogenezy jest nadtlanianie lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) krwi krążącej, a także peroksydacja w obrębie śródbłónka naczyń lipoprotein o wysokiej gęstości [3].

Usunięcie jajników u kobiet w wieku przedmenopauzalnym prowadzi, szczególnie w krytycznym okresie po-

¹ III Katedra i Klinika Ginekologii AM w Lublinie, p.o. kierownika Katedry i Kliniki: dr hab. T. Paszkowski, prof. nadzw. AM

² Oddział Gineologiczno-Położniczy SPZOZ w Krasnymstawie, ordynator Oddziału: dr med. L. Janeczek

³ Katedra i Zakład Patofizjologii AM w Lublinie, kierownik Katedry i Zakładu: prof. zw. dr hab. St. Czuczwar



operacyjnym, do kaskadowego narastania ogólnoustrojowych i miejscowych zmian, które mają potencjalnie groźne konsekwencje dla zdrowia zarówno fizycznego, jak i psychicznego [17]. Dostępna literatura przedmiotu zawiera skąpy zasób informacji naukowych na temat równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej u kobiet w pierwszych dobach po kastracji chirurgicznej.

Cel podjętych badań stanowiła ocena intensywności nadtleniania lipidów we wczesnym okresie pooperacyjnym w odniesieniu do wartości przedoperacyjnych u kobiet w wieku przedmenopauzalnym, którym wycięto macicę wraz z przydatkami.

Materiał i metody

Badaniom poddano 40 przedmenopauzalnych kobiet w wieku 44–55 lat, które zakwalifikowano do leczenia operacyjnego w postaci całkowitego wycięcia macicy drogą brzuszną z obustronną salpingooforektomią. U wszystkich badanych kobiet występowały przed operacją krwawienia miesięczne i żadna z nich nie zgłaszała przed zabiegiem objawów wypadowych. Indeks masy ciała badanych kobiet wahał się między 19,3 a 31,0 kg/m³ (średnio 25,8).

Pacjentki były hospitalizowane w III Katedrze i Klinice Ginekologii AM w Lublinie lub na Oddziale Ginekologiczno-Położniczym Samodzielnego Publicznego Zespołu Opieki Zdrowotnej w Krasnymstawie.

Wskazaniem do operacji były nieprawidłowe krwawienia z macicy, spowodowane mięśniakami macicy u 28 pacjentek (70,0%) lub łagodnymi rozrostami endometrium u 12 kobiet (30,0%). Zabiegi operacyjne wykonano we wszystkich przypadkach sposobem Freunda, w ogólnym znieczuleniu dotchawczym. W żadnym przypadku nie zanotowano powikłań śródoperacyjnych zabiegu. Przebieg pooperacyjny był u wszystkich badanych kobiet niepowikłany. Rozpoznanie przedoperacyjne było w każdym przypadku weryfikowane badaniem histopatologicznym materiału tkankowego.

W doborze pacjentek do badania zastosowano następujące kryteria wykluczające: kliniczne lub/i endokrynne objawy pomenopauzalne; palenie papierosów; obciążenie poza ginekologicznymi chorobami o istotnym klinicznie znaczeniu, takimi jak cukrzyca, astma, choroba niedokrwienna serca, nowotwory itp.; przewlekłe przyjmowanie w czasie eksperymentu jakichkolwiek leków, poza rutynowo stosowanymi w okresie okołoperacyjnym; przyjmowanie kiedykolwiek przed operacją hormonalnej terapii zastępczej; przebycie w przeszłości jakichkolwiek zabiegów operacyjnych w obrębie miednicy mniejszej.

Przedoperacyjny status menopauzalny badanych kobiet obiektywizowano za pomocą oznaczenia stężeń

folitropiny oraz 17β-estradiolu w próbkach surowicy, pobranych tuż przed rozpoczęciem zabiegu operacyjnego. Poziom FSH wynosił średnio 4,91 IU/l (zakres 1,52–8,36) zaś stężenie E₂ wynosiło średnio 447,60 pmol/l (82,90–2462,20).

Materiał biologiczny stanowiła surowica krwi żyłnej. Krew pobierana była z żyły odłokciowej bezpośrednio przed operacją oraz w 2 dobie pooperacyjnej, po upływie ok. 48 godz. od operacji. Próbkę krwi żyłnej o objętości ok. 8 ml natychmiast po wytworzeniu się skrzepu poddawano wirowaniu z prędkością 3 000 g, a uzyskaną surowicę po odpowiednim oznakowaniu zamrażano w temperaturze –80°C do czasu analizy. Od momentu pobrania krwi do momentu przeprowadzenia analizy laboratoryjnej wszystkie próbki osłaniane od światła folią aluminiową. Wszystkie analizy laboratoryjne wykonano w jednej serii, unikając wielokrotnego rozmrażania próbek.

Stężenia produktów nadtleniania lipidów w surowicy krwi żyłnej oznaczano metodą spektrofotometrycznej detekcji substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (ang. *thiobarbituric acid reactive substances*) w modyfikacji Ledwożywa [14].

Terminacja procesu nadtleniania lipidów wiąże się z powstaniem nieaktywnych produktów peroksydacji, którymi są keto- i hydroksykwasy tłuszczowe, aldehydy i hydroksyaldehydy [24]. Końcowe produkty nadtleniania lipidów zawierają wiązania sprzężone, nie występujące w naturalnych kwasach tłuszczowych. Obecność tych wiązań jest dowodem na przejście lipidów badanego kompartmentu przez proces peroksydacji. Sprzężonym dieniem, który skupia na sobie najwięcej uwagi badaczy, jest dialdehyd malonowy (ang. MDA: *malondialdehyde*). Oznaczanie MDA znajduje szerokie zastosowanie jako pośrednia metoda oceny intensywności peroksydacji lipidów *in vivo* [12, 27].

Stężenie MDA wyrażano w nanomolach/miligram białka, w oparciu o krzywą kalibracyjną wykonaną przy użyciu bis-metyloacetylu aldehydu malonylowego. Analizę przeprowadzono w Katedrze i Zakładzie Patofizjologii Akademii Medycznej w Lublinie.

Uzyskany materiał badawczy poddano analizie statystycznej. Ze względu na odstępstwa rozkładów analizowanej zmiennej ciągłej od rozkładu normalnego, analizę statystyczną przeprowadzono przy wykorzystaniu rangowego testu nieparametrycznego jakim jest test Wilcozona (*Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test*). W pracy przyjęto 5-procentowe ryzyko błędu wnioskowania [5]. Statystycznej analizie danych dokonano za pomocą programu Statistica 6.0 firmy Microsoft.



Tab. I. Zawartość dialdehydu malonowego (MDA; w nmol/mg białka) w surowicy krwi żyłnej oznaczona u pacjentek poddanych obustronnej ooforektomii przed operacją [MDA (0)] oraz w 2 dobie pooperacyjnej [MDA (2)]

Parametr	N	Min.–maks.	Mediana	25–75%	V(%)
MDA (0)	40	0,157–0,665	0,302	0,221–0,378	40,1
MDA (2)	40	0,186–0,702	0,461	0,275–0,555	35,7

N: liczebność; Min.–maks.: rozstęp wartości; 25%–75%: przedział między 25 a 75 percentylem; V: współczynnik zmienności

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Lublinie.

Wyniki

Tab. I. przedstawia stężenia dialdehydu malonowego oznaczone w 2 punktach czasowych okresu okołooperacyjnego.

W 48 godz. po obustronnej ooforektomii wystąpił istotny wzrost zawartości końcowych produktów nadtlania lipidów w porównaniu z wartościami wyjściowymi. Stężenie MDA wynosiło w 2 dobie po ooforektomii 80,2% – 189,3% wartości przedoperacyjnej (mediana: 149,6%). Wzrost ten nosił znamiona wysokiej znaczącości statystycznej (test Wilcoxa: $Z=3,258$; $p<0,001$).

Omówienie wyników

Dostępna literatura przedmiotu zawiera nieliczne prace, które dotyczą wpływu kastracji chirurgicznej na równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną [28].

Uzyskany materiał badawczy wskazuje na to, że w 24 godz. po wycięciu macicy z obustronną ooforektomią ma miejsce wzmożona intensywność nadtlania lipidów. Większe narażenie tłuszczowców na uraz peroksydacyjny po menopauzie naturalnej stwierdziło wielu autorów [7, 9, 22, 25]. W porównaniu z badaniami dotyczącymi menopauzy naturalnej, literatura przedmiotu poświęcona peroksydacji lipidów po menopauzie chirurgicznej jest bardzo skąpa.

W eksperymencie na myszach Nakagawa i wsp. [16] wykazali po raz pierwszy, że w 30 dni po obustronnej owariektomii występował znamienny statystycznie wzrost zawartości trwałych produktów nadtlania lipidów w surowicy krwi oraz wątrobie, w odniesieniu do wartości obserwowanych u zwierząt poddawanych operacji kontrolnej z pozostawieniem jajników. Wzmożona intensywność peroksydacji lipidów utrzymywała się u tych zwierząt do 3 miesięcy po kastracji.

Pierwsze badania dotyczące peroksydacji lipidów u kobiet po kastracji chirurgicznej zostały opublikowa-

ne przez Asadę i wsp. w roku 1990 [1]. Bodźcem do podjęcia tych badań było stwierdzenie przez ten sam zespół badawczy znamiennego wzrostu poziomu nadtlanych lipidów w surowicy krwi u kobiet po naturalnej menopauzie. U 7 kobiet przedmenopauzalnych, u których wraz z histerektomią wykonano obustronną ooforektomię przeanalizowano zawartość produktów nadtlania lipidów w okresie pierwszych 60 dni po operacji [1]. W 15. dobie pooperacyjnej u wszystkich badanych kobiet miał miejsce wzrost poziomu MDA o średnio 94,7% ($p<0,01$). Wzrost ten utrzymywał się na poziomie znamiennym statystycznie w 30 i 60 dni po operacji.

Istnieją przesłanki teoretyczne przemawiające za nasileniem zjawisk prooksydacyjnych w fazie katabolicznej przebiegu pooperacyjnego. Istotnym źródłem reaktywnych form tlenu jest oksydoreduktaza ksantynowa, która katalizuje 2-stopniową oksydację puryn i przejście hipoksantyny poprzez ksantynę w kwas moczowy. W obrębie zdrowych tkanek przeważa tor aktywności dehydrogenazy ksantynowej, z użyciem dwunukleotydu adeninowo-nikotynowego (NAD) jako akceptora elektronu. Podczas reakcji tej nie dochodzi do generowania wolnych rodników tlenowych. Na skutek niedokrwienia i uszkodzenia tkanek w rezultacie rozległego zabiegu operacyjnego przeważa katalizowanie tej reakcji przez oksydazę ksantynową, która jako akceptora elektronów zużywa tlen cząsteczkowy. W wyniku tego toru metabolicznego, jako produkt uboczny moczanów powstaje anionorodnik ponadtlenkowy będący reaktywną formą tlenu [2, 6]. Substraty oksydazy ksantynowej w postaci hipoksantyny lub ksantyny gromadzą się w urazowo zmienionych tkankach na skutek zaburzeń metabolizmu wysokoenergetycznych związków fosforowych. Istotnym źródłem reaktywnych form tlenu po urazie operacyjnym może być również system oksydaz NADPH znajdujący się w błonach komórkowych fagocytów gromadzących się uszkodzonych tkankach [6].

Brak w dostępnej literaturze przedmiotu doniesień, które jednoznacznie rozstrzygałyby patomechanizm stresu oksydacyjnego po zabiegach chirurgicznych. Khinev i wsp. [13] stwierdzili, że w 24 godz. po chirurgicznym zabiegu operacyjnym wykonanym w znieczuleniu ogólnym przy użyciu Dipriwanu, zawartość





Ryc. 1. Hipotetyczny łańcuch zjawisk prowadzących do stresu oksydacyjnego po kastrowacji chirurgicznej

substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym wzrasta, zaś pojemność antyoksydacyjna osocza spada w porównaniu z wartościami przedoperacyjnymi. Różnice te jednak, być może ze względu na małą liczbę przypadków, nie były znamienne statystycznie.

Liczni autorzy badający markery stresu oksydacyjnego po menopauzie naturalnej [10, 19, 20, 21] są zdania, iż obserwowane wówczas nasilenie zjawisk prooksydacyjnych jest przyczynowo-skutkowo związane ze spadkiem poziomu estrogenów.

Estrogeny są silnymi antyoksydantami [28]. Właściwości przeciwutleniające estrogenów wynikają ze szczególnej struktury chemicznej tych związków. Grupy wodorotlenowe związane z pierścieniem aromatycznym estrogenów wykazują właściwości fenoli, spełniając podczas reakcji z wolnymi rodnikami tlenowymi rolę donora elektronów. Grupy –OH estrogenów działają jako zmiatacze wolnych rodników alkoksylowych i peroksydowych, zapobiegając propagacji procesu nadtlennienia lipidów. Powstające w wyniku tych reakcji fenoksydowe rodniki estrogenów charakteryzują się znikomą aktywnością prooksydacyjną, łatwo podlegając redukcji przez inne antyoksydanty z odtworzeniem wyjściowej struktury estrogenu [2].

Pośrednim dowodem na to, że wzrost intensywności nadtlennienia lipidów u kobiet po obustronnej ooforektomii jest rezultatem spadku estrogenemii stanowią wyniki badań Asada i wsp. [1]. Autorzy ci wykazali, iż w przeciwieństwie do kobiet po obustronnej owarietomii, u 9 kobiet przedmenopauzalnych, u których wycięto macicę z pozostawieniem

jednego jajnika, markery intensywności nadtlennienia lipidów w surowicy krwi nie zmieniły się znamienne po operacji.

Również w świetle wyników badań własnych [11] wzrost intensywności nadtlennienia lipidów po wycięciu jajników wydaje się pozostawać w związku ze spadkiem poziomu estrogenemii. W oparciu o wiedzę z zakresu nauk podstawowych oraz nie-liczne opublikowane w tej mierze doniesienia kliniczne można przypuszczać, że do stresu oksydacyjnego po menopauzie chirurgicznej prowadzi łańcuch interakcji zilustrowany na ryc. 1. W myśl tej hipotezy, spadek potencjału antyoksydacyjnego w rezultacie głębokiego spadku estrogenemii sprzyja inicjacji kaskady peroksydacyjnej, co z kolei prowadzi do dalszego wyczerpywania się zasobu antyoksydantów. Powstawanie w efekcie takiego błędnego koła stresu oksydacyjnego wydaje się być szczególnie prawdopodobne we wczesnym okresie pooperacyjnym, kiedy nie są w pełni uzupełniane straty tych antyoksydantów, których podstawowym źródłem dla człowieka jest pożywienie.

Wnioski

1. W 48 godz. po wycięciu macicy z przydatkami dochodzi do znamienego wzrostu zawartości końcowych produktów nadtlennienia lipidów w surowicy krwi żyłnej.
2. We wczesnym okresie pooperacyjnym po kastrowacji chirurgicznej powstają warunki sprzyjające powstaniu stresu oksydacyjnego



Summary

Rationale for the study. The literature contains data suggesting that a postmenopausal woman is exposed to an oxidative stress due to the low estrogen levels. Very scanty data are however available considering the prooxidant-antioxidant homeostasis in the early postoperative period following surgical castration.

Objective. The purpose of this study was to characterize the intensity of lipid peroxidation in the perioperative period in premenopausal women who underwent total abdominal hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy (TAH&BSO).

Patients. Forty premenopausal women aged 44–55 years were included into this study. The indication for the TAH&BSO was menorrhagia due to uterine fibroids or benign endometrial hyperplasia.

Biological material and laboratory analyses. In all the examined patients venous blood was collected before the operation as well as in the postoperative day 2. In the serum samples, level of lipid peroxides was measured, using spectrophotometric TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) method.

Results/Conclusions 1. In the postoperative day 2 levels of lipid peroxidation end-products increase significantly. 2. In the early postoperative period after surgical castration, patients are predisposed to the oxidative stress.

Key words: surgical castration, lipid peroxidation, oxidative stress

Piśmiennictwo

- Asada Y, Komura S, Ohishi N, et al. Effect of ovariectomy on serum lipid peroxide levels in women. *J Clin Biochem Nutr* 1990; 8: 247–52.
- Bartos G. *Druga twarz tlenu*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. 1995.
- Brown MS, Goldstein JL. Scavenging for receptors. *Nature* 1990; 343: 508–9.
- Cochrane C, Schraufstatter I, Hyslop P, Jackson J. Cellular and biochemical events in oxidant injury. In: *Oxygen Radicals and Tissue Injury* (red. B. Halliwell). Federation of the American Science for Experimental Biology. Bethesda 1987: 49–56.
- Colton T. *Statistics in Medicine*. Little Brown. Boston. 1974.
- Czekalski P, Ciesielski L. Znaczenie wolnych rodników w chirurgii. *Post Nauk Med* 1994; 7: 212–18.
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992; 13: 341–90.
- Gardner H. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. *Free Radic Biol Med* 1989; 7: 65–72.
- Holvoet P, Collen D. Oxidation of low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 137 (Suppl): 33–8.
- Inal M, Sunal E, Kanbak G, Zeytinoglu S. Effects of postmenopausal hormone replacement and alpha-tocopherol on the lipid profiles and antioxidant status. *Clin Chim Acta* 1997; 268: 21–29.
- Janeczek L, Paszkowski T, Sikorski R i et al. Poziom estrogenemii we wczesnym okresie pooperacyjnym po obustronnej ooforektomii z uwzględnieniem wpływu przezskórnej estrogenowej terapii zastępczej. *Ginekolog* 2001; 72: 1383–7.
- Janeru D. Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1990; 9: 515–40.
- Khinev S, Dafinova K, Tenchova V, Bakalova R. The lipid peroxidation level and antioxidant status of the plasma in patients operated on under propofol (Diprivan) anesthesia. *Chirurgia (Sofia)* 1995; 48: 23–25.
- Ledwozyw A, Michalak J, Stępień A, Kądziołka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1986; 155: 275–85.
- Lippman R. Free radical-induced lipoperoxidation and aging. W: *Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*, vol 1 (red. J. Miquel i wsp.) CRC Press. Boca Taron. 1989: 187–97.
- Nakagawa Y, Yoshino K, Komura S, et al. Effect of ovariectomy on serum and liver lipid peroxide levels of female mice. *J Clin Biochem Nutr* 1989; 6: 87–94.
- Paszkowski T. Estrogenowa terapia zastępcza po menopauzie chirurgicznej. *Ginekolog* 2000; 7: 30–5.
- Paszkowski T, Sikorski R, Janeczek L, et al. Postoperative estrogen replacement therapy in premenopausal oophorectomized patients improves the serum antioxidant status – preliminary report. *Pol J Gynaecol Invest* 1999; 1: 217–9.
- Sack MN, Rader DJ, Cannon R III. Oestrogen and inhibition of oxidation low-lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet* 1994; 343: 269–70.
- Schwenke DC. Aging, menopause, and free radicals. *Semin Reprod Endocrin* 1998; 16: 281–308.
- Steinberg D. Role of oxidized LDL and antioxidants in atherosclerosis. *Adv Exp Med Biol* 1995; 368: 39–48.
- Subbiah MT, Kessel B, Agrawal M, et al. Antioxidant potential of specific estrogens on lipid peroxidation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1095–7.
- Thomas M. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995; 35: 21–39.
- Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci* 1991; 48: 301–9.
- Wakatsuki A, Ikenoue N, Sagara Y. Effects of estrogen on susceptibility to oxidation of low-density and high-density lipoprotein in postmenopausal women. *Maturitas* 1998; 28: 229–34.
- Yagi K. *Lipid Peroxides in Biology and Medicine*. Academic Press. New York 1982.
- Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: *Free Radicals in Diagnostic Medicine. A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy* (red. D. Armstrong), Plenum Press. New York 1994: 1–15.
- Yagi K. Female hormones act as natural antioxidants – a survey of our research. *Acta Bioch Pol* 1997; 44 (4): 701–710.

Adres do korespondencji:

III Katedra i Klinika Ginekologii AM,
ul. Jaczewskiego 8,
20-954 Lublin,
e-mail: tompasz@eskulap.am.lublin.pl

