## ОБМЕН ХОЛЕСТЕРИНА, ДНК-ПОВРЕЖДЕНИЯ, АПОПТОЗ И НЕКРОЗ КЛЕТОК В КРОВИ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ СОЧЕТАННОЙ ТРАВМЕ

В. В. Мороз, В. И. Решетняк, М. Ю. Муравьева, А. К. Жанатаев\*, Ю. В. Марченков, А. Д. Дурнев\*

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва; \* ГУ НИИ фармакологии РАМН, Москва

# Cholesterol Exchange, DNA Damages, Apoptosis and Necrosis of Blood Cells in Severe Concomitant Injury

V. V. Moroz, V. I. Reshetnyak, M. Yu. Muravyeva, A. K. Zhanatayev\*, Yu. V. Marchenkov, A. D. Durnev\*

Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow
\* Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Цель настоящего исследования — определить прогностическую ценность показателей обмена холестерина, свободно-радикальных процессов и ДНК повреждений у пострадавших в ранние сроки после тяжелой сочетанной травмы. *Материал и методы*. В исследование были включены 77 человек, перенесших тяжелую механическую травму. Тяжесть состояния больных по шкале АРАСНЕ II при поступлении составила 19,1±5,4 баллов. Всех больных в зависимости от исхода заболевания разделили на 2 группы: I — умершие, II — выжившие. Исследование осуществляли при поступлении в реанимационное отделение на 3-и, 5-е, 7-е и 15-е сутки. Уровень ДНК-повреждений в клетках крови, а также процент апоптотических и некротических клеток крови оценивали методом гель-электрофореза изолированных клеток (метод «ДНК-комет»). Для оценки содержания 8-гидрокси-2-деоксигуанозина в ДНК клеток использовали набор «Human 8-охоGuanine DNA Glycosylase (OGG1) FLARE Assay». Определение холестеринового и общего антиокислительного статуса, биохимических показателей производили на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Miras Plus. Холестерин липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) определяли расчетным методом. Результаты и обсуждение. При тяжелой сочетанной травме наблюдается увеличение повреждений ДНК в клетках крови и усиление процессов апоптоза и некроза клеток в крови, которые особенно выражены на 3-5-е сутки. В группе умерших отмечается увеличение 8гидрокси-2-дезоксигуанозина выше нормы на 5-е и 7-е сутки. Общий антиокислительный статус был при поступлении у выживших и умерших больных ниже нормальных значений и имел тенденцию к снижению в процессе наблюдения в обеих группах. Среднестатистические значения общего холестерина были снижены на всех этапах исследования. Концентрация триглециридов и ЛПОНП у всех больных на этапах исследования была в пределах нормальных значений. В группе выживших больных содержание ЛПНП в первую неделю наблюдения было в пределах нормы и выше, чем в группе умерших. Изменения со стороны липопротеидов высокой плотности характеризовались уменьшением их содержания в плазме на всем протяжении наблюдения за пострадавшими. В обеих группах активность щелочной фосфатазы увеличивалась в динамике и на 15-е сутки становилась в 1,5-2 раза выше нормальных значений. У выживших больных при поступлении активность ү-глютамилтрансферазы (ГГТ) была в пределах нормальных значений. Динамика активности фермента в этой группе имеет тенденцию к увеличению, как и содержание общего белка в плазме этих больных. Заключение. При ТСТ наблюдается увеличение процессов ДНК-повреждений, ассоциирующееся с усилением клеточной гибели. Динамика изменения общего холестерина, холестерина ЛПНП, общего белка, активности у-ГГТ и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина может использоваться в качестве прогностических признаков. Ключевые слова: апоптоз, некроз, ДНК-повреждения, 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин, обмен холестерина, травма.

Objective: to study a number of free-radical reactions, the parameters of cholesterol exchange, and the extent of blood cell DNA damages in victims early after concomitant injury. Subjects and methods. The study covered 77 patients who had experienced severe mechanical injury. The patients' condition on admission was an APACHE II of 19.1±5.4 scores. According to the outcome of the disease, all the patients were divided into 2 groups: 1) deceased patients and 2) survivors. The study was conducted on admission to an intensive care unit and on days 3, 5, 7, and 15. The extent of blood cell DNA damages and the proportion of apoptotic and necrotic blood cells were estimated by gel isolated cell electrophoresis (DNA rocket electrophoresis). The «Human 8-oxoGuanine DNA Glycosylate (OGG1) FLARE Assay» kit was used to measure the content of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in cell DNA. The cholesterol and overall antioxidative statuses and biochemical parameters were determined on an automatic biochemical Cobas Miras Plus analyzer. Very low-density lipoproteins (VLDL) and low-density lipoproteins (LDL) were calculated. Results and discussion. In severe concomitant injury, there were increases in DNA damages in the blood cells and in their apoptotic and

necrotic processes, which were particularly pronounced on days 3–5. In the group of deceased patients, the increase of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine was greater than the normal values on days 5 and 7. On admission, the systemic antioxidative status was greater than the normal values in the survivors and deceased patients and tended to diminish in both groups during an observation. The average statistical values of total cholesterol were lower at all stages of the study. At the stages of the study, the concentration of triglycerides and VLDL were in the normal range in all the patients. At week 1 of the observation, the level of LDL was normal or greater in the survivors than in the deceased. The changes in high-density lipoproteins were characterized by their decreased plasma levels throughout the observation of the victims. In both groups, the activity of alkaline phosphatase increased over time and was 1.5–2 times higher than the normal values on days 15. In the survivors, the admission activity of  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT) was in the normal range. The activity of the enzyme in this group tended to increase, so did the plasma level of total protein in these patients. *Conclusion*. In severe concomitant injury, there is an increase in DNA damage processes, which is associated with the enhanced cell death. The time course of changes in the levels of total cholesterol, LDL cholesterol, and total protein and in the activities of  $\gamma$ -GT and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine may be used as predictors. *Key words*: apoptosis, necrosis, DNA damage, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine, cholesterol exchange, injury.

Известно, что тяжелая сочетанная травма (ТСТ) приводит к нарушению практически всех видов обмена веществ [1]. Вместе с тем, состояние обмена холестерина в разные периоды течения ТСТ до сих пор остается малоизученным, имеются лишь единичные данные о возможности формирования дислипидемии у больных [2, 3]. Одной из причин нарушения метаболизма возможно являются структурно-функциональные изменения клеток, происходящие в условиях нарушения физиологического равновесия между анти- и прооксидантными процессами.

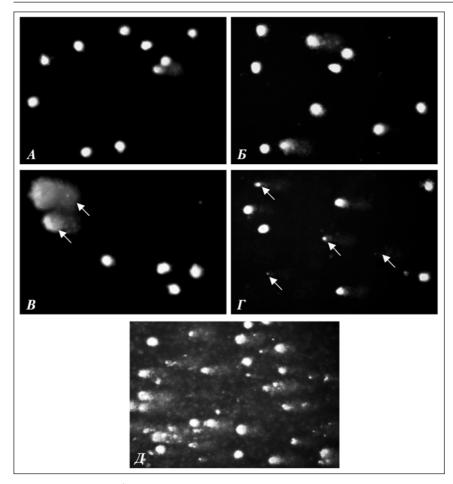
Свободно-радикальные процессы и связанные с ними структурно-функциональные изменения клеток могут служить запускающими механизмами патологических процессов, обусловленных критическим состоянием [4]. Нарушения физиологического равновесия в постреанимационном периоде между анти- и прооксидантными процессами происходят в условиях избыточной генерации активных форм кислорода (АФК) [5, 6]. Основными АФК, генерируемыми в организме человека, являются супероксиданионрадикал, гидроксильный радикал, перекись водорода, синглетный кислород и оксид азота. АФК исходно являются продуктами нормального клеточного метаболизма. При патологических состояниях их генерация становится значительно увеличивается и не компенсируется антиоксидантной системой защиты, в результате чего АФК вызывают выраженные цитотоксические и генотоксические эффекты. Оценить уровень продукции АФК в клинических условиях практически невозможно. Однако, судить об увеличении продукции АФК можно по содержанию ряда метаболитов, образующихся в результате окислительной модификации липидов, белков и нуклеиновых кислот [7, 8]. Вызываемые АФК повреждения ДНК включают одиночные и парные разрывы цепей ДНК, модификацию азотистых оснований. Из всех оснований гуанин является наиболее окисляемым. Продуктом его окисления, в результате воздействия АФК, является 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин. Последний выводится из организма в течение 9-62 минут и может быть определен в различных биологических жидкостях [9]. Количественное определение 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина предложено использовать в качестве одного ИЗ маркеров свободно-радикальных процессов, происходящих в организме в норме и при развитии патологического процесса. Определение ДНК-повреждений в качестве биологического индикатора свободно-радикальных процессов может иметь существенное значение при мониторинге терапии и для оценки прогноза заболевания. На сегодняшний день нет четких представлений о ДНК-повреждениях при критических состояниях и, в частности, при тяжелой сочетанной травме.

Повреждающему действию АФК на клеточные структуры в организме противостоит сложная много-компонентная антиоксидантная система. С помощью этой системы обеспечивается поддержание про-/антиокислительного баланса. Низкомолекулярными компонентами этой системы являются природные антиоксиданты. Известны также многочисленные синтетические антиоксиданты. Эти вещества являются представителями разных классов химических соединений, в связи с чем разнообразны и механизмы их антиоксидантного действия. Снижение уровня антиоксидантной защиты у пациентов в критических состояниях описано многими авторами [10—12]. При этом вопрос о необходимости ее усиления с помощью экзогенных антиоксидантов остается нерешенным [13, 14].

Цель настоящего исследования — определить прогностическую ценность показателей обмена холестерина, свободно-радикальных процессов и ДНК повреждений у пострадавших в ранние сроки после тяжелой сочетанной травмы.

## Материалы и методы

В исследование были включены 77 человек, перенесших тяжелую механическую травму, кровопотерю (20-48 мл/кг) с нарушением гемодинамики. Средний возраст больных составил  $37.8\pm9.2$  лет (от 17 до 68 лет). Все больные нормостенического типа телосложения со средней массой тела 75,7±7,1 кг (от 50 до 95 кг). Пострадавшие с тяжелой черепно-мозговой травмой из исследования были исключены. Тяжесть состояния оценивали в баллах по шкале APACHE II в течение всего периода пребывания в реанимационном отделении, средняя величина при поступлении составила 19,1±5,4 баллов. Всем больным проводили традиционный комплекс интенсивной помощи, согласно основным принципам лечения острой кровопотери и травматического шока [15]. Всех больных в зависимости от исхода заболевания разделили на 2 группы: I умершие, II — выжившие. Величину кровопотери определяли косвенно - в соответствии с объемом травмы, и непосредственно — на основании данных, полученных в результате проведения оперативных вмешательств. Исследование осуществляли при поступлении в реанимационное отделение, на 3-и, 5-е, 7-е и 15-е сутки. Забор 20 мл венозной крови для определения



**Рис. 1. Примеры изображений с препаратов «ДНК-комет» клеток крови.** A-ДНК-кометы клеток крови здорового донора; B-ДНК-кометы клеток крови больного (3 суток); B- пример ДНК-кометнекротических клеток; C- пример ДНК-комет апоптотических клеток; C- высокофрагментированная ДНК на препаратах ДНК-комет.

показателей свободно-радикальных процессов и обмена холестерина проводили из катетеризированной центральной вены во время нахождения больных в реанимационном отделении или из локтевой вены при обследовании пострадавших в профильных отделениях.

Уровень ДНК-повреждений в клетках крови, а также процент апоптотических и некротических клеток крови больных с тяжелой сочетанной травмой (n=22) оценивали методом гель-электрофореза изолированных клеток (метод «ДНК-комет»). Метод основан на регистрации различной подвижности в постоянном электрическом поле ДНК и фрагментов ДНК лизированных клеток, заключенных в агарозный гель. При электрофорезе образца ДНК мигрирует к аноду, формируется след, напоминающий «хвост кометы», параметры которого зависят от степени поврежденности ДНК. Образцы крови (2 мл) смешивали с равным объемом среды RPMI-1640, содержащей 10% диметилсульфоксида, замораживали и хранили до анализа при -20°C. Затем для анализа образцы крови в объеме 50 мкл вносили в пробирки с 500 мкл 1% раствора агарозы, ресуспендировали и наносили на предварительно покрытые агарозой предметные стекла. После затвердевания агарозы микропрепараты лизировали охлажденным буфером (10 mM Tris-HCl [pH 10], 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, 1% Triton X-100, 10% DMSO) не менее 1 часа. После окончания лизиса микропрепараты инкубировали в буфере для электрофореза (300 mM NaOH, 1 mM EDTA-Na<sub>2</sub>, pH>13) в течение 20 минут для реализации щелочно-лабильных сайтов и щелочной денатурации ДНК. Проводили электрофорез в течение 20 минут при напряженности поля 1V/cm и силе тока ~300 mA. После проведения электрофореза микропрепараты фиксировали в 70% растворе этилового спирта, высушивали и хранили до анализа при комнатной температуре.

Для оценки содержания 8-гидрокси-2-деоксигуанозина в ДНК клеток крови использовали набор «Human 8oxoGuanine DNA Glycosylase (OGG1) FLARE Assay» (R&D Systems Inc., USA, Catalog Number 4130-100-FK). FLARE (Fragment Length Analysis using Repair Enzymes) является модификацией метода «ДНК-комет» и основан на регистрации уровней одно- и двухнитевых разрывов ДНК индивидуальных клеток после обработки hOGG1 — ферментом эксцизионной репарации 8-гидроксигуанина. Приготовление препаратов для анализа проводили в соответствии с инструкнией произволителя

Непосредственно перед микроскопированием препараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (1:10000 в ТЕ-буфере) в течение 30 мин. Анализ проводили на эпифлуоресцентном микроскопе Микмед-2 12Т («Ломо», Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения (VEC-335, «ЭВС», Россия), при увеличении ×400. Полученные с микропрепаратов изображения «ДНК-комет» анализировали с использованием программного обеспечения CASP 2.2.1. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте «ДНК-комет» (%ДНК в хвосте от общего ко-

личества ДНК в комете). Апоптотические клетки идентифицировали как специфичные «ДНК-кометы» с диффузным «хвостом» и практически отсутствующей «головой» (рис. 1, *I*), некротические клетки как широкие «рыхло-диффузные» «ДНК-кометы» неправильной формы (рис. 1, *B*). Содержание 8-гидрокс-2-дезоксигуанозина выражали в относительных единицах (о. е.), определяемых как отношение показателя %ДНК в хвосте в клетках, обработанных hOGG1 к аналогичному показателю для клеток, обработанных только ферментным буфером.

Для определения показателей обмена холестерина и антиокислительного статуса 18 мл крови помещали в пробирку с 0,1 мл гепарина с последующим центрифугированием в течение 15 минут при скорости 2000 для получения плазмы. Определение триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), общего антиокислительного статуса и биохимических показателей (билирубина, общего белка, креатинина, мочевины, активности АСТ, АЛТ, ГГТ и щелочной фосфатазы) производили на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Miras Plus (Roche, Швейцария) с использованием коммерческих наборов реактивов (Randox, Roche, Швейцария). Холестерин липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) определяли расчетным методом по формуле Фридвальда: ХС ЛПОНП = ТГ/2,2 (ммоль/л);  $XC ЛПНП = общий <math>XC - XC ЛПВП - T\Gamma/2$  (ммоль/л). Весь экспериментальный материал обработан статистически с использованием общепринятых математико-статистических

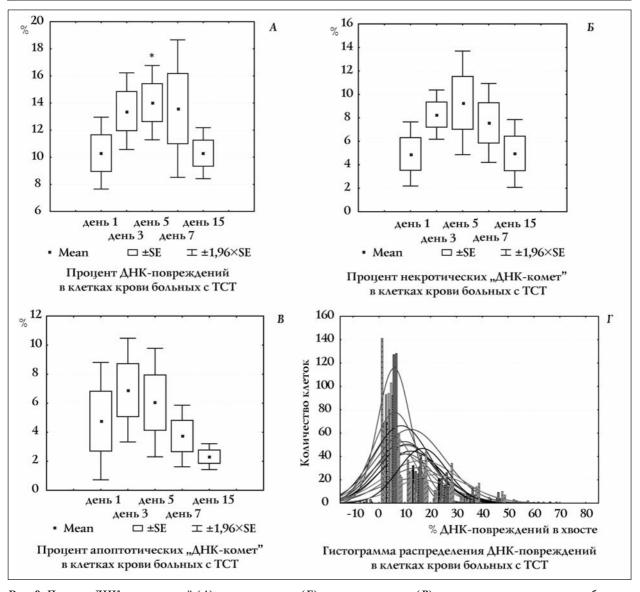


Рис. 2. Процент ДНК-повреждений (A), некротических (B) и апоптотических (B) клеток на различных этапах обследования у больных с ТСТ, а также гистограмма ( $\Gamma$ ) распределения ДНК-повреждений в клетках крови.

\* — статистически значимые отличия по сравнению с показателем на первый день.

методов расчета основных характеристик выборочных распределений (среднее арифметическое, стандартное отклонение и т. д.) с использованием среды Windows и пакета компьютерных программ «Statistica 6.0». Статистическую оценку результатов проводили путем сравнения показателей у пациентов на различные сутки с использованием критерия Вилкоксона. Среднегрупповые показатели в контрольной группе и группе больных сравнивали с использованием t-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Анализ полученных данных показал, что ТСТ сопровождается изменениями свободно-радикальных процессов и обмена холестерина крови. Динамика этих изменений имеет фазовый характер.

На рис. 1 представлены примеры изображений с препаратов «ДНК-комет» клеток крови здорового донора (рис. 1, A) и больных (рис. 1, E—A). Средний показатель поврежденности ДНК клеток крови, оцениваемый по показателю %ДНК в «хвосте» у здоровых

доноров составил 6,1 $\pm$ 2,2%. У больных ТСТ аналогичный показатель на первые сутки составил 10,5 $\pm$ 1,9%, что статистически значимо выше по сравнению с контролем (p<0,05), причем как у умерших, так и у выживших больных. На 3-и, 5-е и 7-е сутки наблюдали дальнейшее увеличение данного показателя (рис. 2, A). При этом на 5-е сутки значение поврежденности ДНК (14,0 $\pm$ 1,3%) оказалось статистически значимо выше по сравнению с первыми сутками (p<0,05). На 15-е сутки средний показатель поврежденности ДНК снизился до уровня 10,3 $\pm$ 0,9% и оставался достоверно выше величины контроля.

Начиная с первых суток, у пациентов значительно возрастает содержание некротических (рис. 1, B) и апоптотических «ДНК-комет» (рис. 1,  $\Gamma$ ), достигая максимального значения на 3-и (рис. 2, B) и 5-е (рис. 2, E) сутки и постепенно снижаясь к 15-м суткам наблюдения. При попарном сравнении апоптотических и некротических показателей «ДНК-комет» в различные сроки

наблюдений значимых различий на этапах исследования не выявлено (рис. 2, E, E). При этом стоит отметить, что на 15-е сутки среднее содержание некротических (4,9±1,5%, E0,05) и апоптотических клеток (2,3±0,5%, E0,05) оставалось статистически значимо выше по сравнению с показателями для здоровых доноров (0,8±0,2 и 0,7±0,2%, соответственно).

Таким образом, установлено, что при тяжелой сочетанной травме наблюдается увеличение повреждений ДНК в клетках крови, а также усиление процессов гибели клеток в крови. Статистический анализ данных выявил прямую корреляцию между показателем ДНК-повреждений и содержанием некротических клеток на первые сутки и процентом апоптотических клеток на 7-е сутки, что свидетельствует о взаимосвязи между ДНК-повреждениями и процессами некроза и апоптоза. Наблюдаемое увеличение процента апоптотических клеток на 7-е сутки может быть связано также с усилением процессов ДНКрепарации в клетках, являющейся ответной реакцией на возникающие при ТСТ ДНК-повреждения в клетках. В дальнейших исследованиях с использованием иных методических подходов возможно будет дифференцировать возникающие ДНК-повреждения (одно- и/или двунитевые разрывы, щелочно-лабильные сайты), а также оценить уровень ДНК-репаративных процессов, что позволит полнее раскрыть механизмы этой взаимосвязи.

Совокупный анализ данных позволяет предположить, что основные процессы, связанные с повреждением ДНК апоптозом и некрозом клеток в крови при ТСТ приходятся на 3—5-е сутки. У 8 пациентов на 3-и или 5-е сутки наблюдали массивную клеточную гибель, выявляемая на препаратах в виде диффузно распределенной высокофрагментированной ДНК, затрудняющей анализ и дифференцировку «ДНК-комет» (рис. 1, Д).

В рамках настоящей работы сложно ответить, является ли это последствием некротической или апоптотической гибели клеток. Известны литературные данные, свидетельствующие о значительном возрастании в плазме крови больных в критическом состоянии ДНК некротических клеток, величина которой обратно коррелировала с выживаемостью больных [16]. Следует отметить, что исключение из анализа данных препаратов с высокофрагментированной ДНК может объяснить отсутствие статистически значимых различий на этапах исследования, представленных на рис. 2, A-B, несмотря на очевидные тенденции. Остается также открытым вопрос, является ли эта фрагментированная ДНК следствием апоптоза/некроза клеток крови или эта ДНК элиминируется в кровь при гибели клеток в поврежденных органах и/или тканях. Анализ полученных нами данных показал, что увеличение ДНК-повреждений происходит лишь в определенной популяции клеток крови (рис.  $2, \Gamma$ ).

Принимая во внимание взаимосвязанность процессов, можно предположить, что апоптотическая/некротическая гибель в органах/тканях вносит значительный вклад в увеличение уровней ДНК в плазме крови при ТСТ.

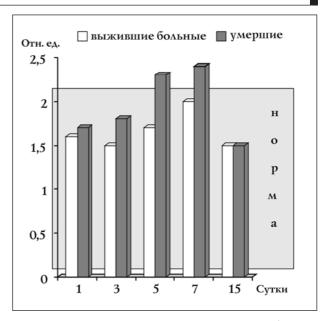


Рис. 3. Динамика 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина у больных с ТСТ на этапах исследования.

8-гидрокси-2-дезоксигуанозин при поступлении был в пределах нормальных значений в обоих группах. В группе умерших отмечается увеличение суммарного показателя свободно-радикальных процессов с выходом за пределы нормальных значений на 5-е и 7-е сутки. Тенденция к увеличению показателя на 5-й и 7-й день наблюдения отмечается и у выживших больных, но полученные значений находятся в пределах нормы (рис. 3). Увеличение значений 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина выше нормальных значений на 5-е и 7-е сутки наблюдения больных с ТСТ может рассматриваться как прогностически неблагоприятный признак. Общий антиокислительный статус был при поступлении у выживших и умерших больных ниже нормальных значений и имел тенденцию к снижению в процессе наблюдения в обеих группах.

Среднестатистические значения общего холестерина в группе умерших больных были стабильно ниже нормы на всех этапах исследования (см. таблицу). По мнению отдельных авторов, развитие гипохолестеринемии при тяжелой механической травме может быть обусловлено нарушением синтетической функции печени вследствие ее гипоксического повреждения, а так же за счет повышенного синтеза гормонов [17]. Однако, как известно, ТСТ сопровождается кровопотерей, которая может приводить к потере холестерина. Проведение интенсивной терапии с массивной инфузией коллоидно-кристаллоидных растворов больным, поступающим в реанимационное отделение, также способствует снижению уровня общего холестерина в плазме пострадавших. ТСТ сопровождается повреждением органов, тканей и клеток, для восстановления целостности которых необходимы энергия и структурные компоненты (фосфолипиды, холестерин, белки). Все это может объяснять снижение холестерина в крови этих больных в период наблюдения. У выживших больных в течение первой недели после травмы показатель

Показатели холестеринового	обмена у	у больных і	c TCT	(M+SD)	
HUNASAICAN AUACCICDINOBUIU	OUMCHA	V OUNDRDIA		( <i>M</i> 1 - 3D )	

Показатель	Нормальные	Группа _	Значения показателей на этапах исследования (сутки)				
	значения		1-е	3-и	5-е	7-е	15-е
Общий холестерин, ммоль/л	3,9-5,2	I	2,67±1,01	3,03±1,43	2,98±0,77	2,70±0,62	3,76±1,81
		II	$3,34\pm1,57$	$3,32\pm1,01$	$3,44\pm1,38$	$3,80\pm1,34$	$4,43\pm1,12$
Холестерин ЛПВП, ммоль/л >1,4	>1,4	I	$0,54\pm0,38$	$0,46\pm0,21$	$0,29\pm0,23$	$0,28\pm0,17$	$0,14\pm0,09$
		II	$0,51\pm0,32$	$0,49\pm0,27$	$0,45\pm0,14$	$0,45\pm0,20$	$0,58\pm0,19$
Холестерин ЛПНП, ммоль/л <3,0	<3,0	I	$1,39\pm0,56$	$1,89\pm0,86$	$1,86\pm0,42$	$1,60\pm0,72$	$2,50\pm1,13$
		II	$2,82\pm1,09$	$2,23\pm0,72$	$2,40\pm0,63$	$2,67\pm0,84$	$3,22\pm1,14$
Холестерин ЛПОНП, ммоль/л 0,20-0,83	I	$0,67\pm0,18$	$0,61\pm0,13$	$0,75\pm0,17$	$0,75\pm0,16$	$0,57\pm0,13$	
		II	$0,69\pm0,18$	$0,44\pm0,16$	$0,53\pm0,14$	$0,59\pm0,29$	$0,61\pm0,34$
ТГЛ, ммоль/л	0,45 - 1,82	I	$1,49\pm0,72$	$1,36\pm0,39$	$1,66\pm0,59$	$1,65\pm0,34$	$1,26\pm0,56$
		II	$0,98\pm0,60$	$1,18\pm0,51$	$1,31\pm0,69$	$1,35\pm0,33$	$1,52\pm0,41$

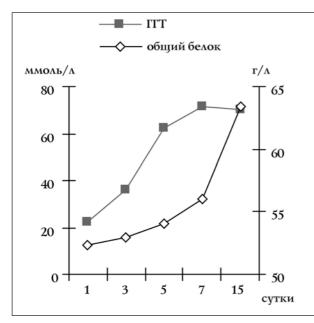


Рис. 4. Динамика активности ГГТ и содержание общего белка в группе выживших больных с ТСТ на этапах исследования.

концентрации холестерина был ниже нормальных значений, но имел тенденцию к постепенному увеличению и к 15-м суткам исследования возвращался к норме, составив 4,43±1,12 ммоль/л. Нормализация уровня холестерина в крови выживших больных свидетельствует о нормальном функционировании гепатоцитов, в которых синтезируется большая часть холестерина плазмы, особенно в период недостаточного его поступления в организм из вне. О нормальной синтетической функции печени больных с ТСТ свидетельствует так же восстановление к 15-м суткам уровня белка в плазме крови выживших больных.

Характерным нарушением белкового обмена при ТСТ является гипопротеинемия, что так же может быть обусловлено массивной кровопотерей и разведением крови за счет инфузионно-трансфузионной терапии. У всех обследованных больных концентрация общего белка была ниже нормальных значений. Анализ динамики белкового профиля в группе выживших больных указывает на постепенную нормализацию показателя, в то время как в группе умерших больных отмечается нарастание гипопротеинемии в первую не-

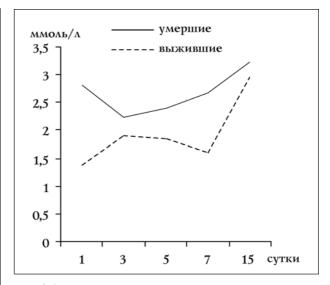


Рис. 5. Содержание холестерина ЛПНП в группах умерших и выживших больных с тяжелой сочетанной травмой на этапах исследования.

делю наблюдения. Выявленное увеличение общего белка в группе умерших больных к концу второй недели после ТСТ можно объяснить нарастанием процессов апоптоза и некроза в терминальной стадии.

У выживших больных при поступлении активность  $\gamma$ -глютамилтрансферазы (ГГТ) была в пределах нормальных значений. Динамика активности фермента в этой группе имеет тенденцию к увеличению, как и содержание общего белка в плазме этих больных, что, повидимому, обусловлено компенсаторной активацией белковосинтетических процессов в организме больных с ТСТ и о сохранении функциональной активности печени (рис. 4).

Как видно из таблицы концентрация триглицеридов и ЛПОНП у всех больных на этапах исследования находилась в пределах нормальных значений. Динамика содержания холестерина ЛПНП в первую неделю после травмы у выживших и умерших больных имеет разнонаправленный характер (рис. 5). При этом в группе выживших больных содержание холестерина ЛПНП в первую неделю наблюдения было в пределах нормы и выше, чем в группе умерших. К 15-м суткам уровень холестерина ЛПНП в этой группе превысил верхнюю границу нормы, достигая значения 3,08±1,01. Очень

низкое содержание ЛПНП при поступлении в группе умерших больных может быть обусловлено более значимой кровопотерей, по сравнению с выжившими. В первые трое суток после травмы имеется тенденция к увеличению содержания ЛПНП в группе умерших, что можно объяснить попыткой травмированного организма увеличить доставку холестерина от печени с помощью ЛПНП к поврежденным тканям и клеткам для их репарации. При этом ограниченность компенсаторных возможностей организма, обусловленная тяжестью травмы, может, по-видимому, приводить к снижению уровня холестерина ЛПНП с 3-го по 7-й день наблюдения. С чем связано увеличение общего холестерина и холестерина ЛПНП к 15-м суткам в группе умерших больных остается неясным. Возможно это обусловлено массивной гибелью клеток, что может сопровождаться неспособностью клеточных мембран встраивать доставляемый липопротеидами низкой плотности холестерин. Полученные данные позволяют предположить, что значение холестерина ЛПНП ниже 2,0 ммоль/л в течение первой недели после травмы, сопровождаемое низким (менее 3,2 ммоль/л) уровнем общего холестерина, является прогностически неблагоприятным.

Среднестатистический показатель холестерина ЛПВП в обеих группах был почти в три раза меньше значения нижней границы нормы. Изменения со стороны холестерина ЛПВП характеризовались уменьшением его содержания в плазме на всем протяжении наблюдения за пострадавшими. Особенно заметное снижение показателя отмечалось на 5-й и 7-й день наблюдения в группе умерших. Следует заметить, что ЛПВП на 15-е сутки после травмы в группе умерших больных резко падает, в то время как общий холестерин и холестерин ЛПНП в этот период резко растет. Эти данные могут свидетельствовать о том, что в терминальной стадии заболевания, несмотря на стремление организма увеличить доставку холестерина к клеткам и тканям, последние по каким-то причинам не способны встраивать его в клеточные мембраны. Одной из возможных причин может быть нарастание процессов апоптоза и некроза в терминальной стадии заболевания у пострадавших [18].

Концентрация мочевины в течение всего времени наблюдения за больными обоих групп находилась в пределах физиологической нормы, как и концентрация креатинина. И только в группе умерших на 15-е сутки содержание последнего становилось ниже нормы (49,5±7,7 мкмоль/л), что, возможно, связано с уменьшением мышечной массы у длительно иммобилизированных больных.

Содержание общего билирубина в плазме крови обеих групп в течение всего времени наблюдения было в пределах нормальных значений, что, косвенным обра-

зом, свидетельствует о нормальной желчеобразовательной и желчевыделительной функции печени. В течение первых 5-и суток после травмы в обеих группах имелась тенденция к увеличению уровня билирубина, что можно объяснить рассасыванием множественных гематом и резорбцией продуктов распада гема.

Среди ряда метаболических нарушений, выявленных в остром посттравматическом периоде, у больных обеих групп обнаружено значительное повышение активности АСТ на всех этапах, которое, по-видимому, обусловлено гипоксическим и травматическим повреждением тканей и связанным с ним нарушением целостности цитоплазматических мембран. Активность АСТ в обоих группах на этапах исследования имеет тенденцию к снижению.

Показатели активности АЛТ находятся в пределах нормальных значений в обеих группах на всех этапах исследования, и только у умерших на 15-е сутки наблюдалось снижение активности ниже нижней границы нормы.

В обеих группах активность щелочной фосфатазы увеличивалась в динамике и на 15-е сутки становилась в 1,5—2 раза выше нормальных значений. Рост активности данного фермента, по-видимому, связан с повышенной потребностью организма в фосфоре, необходимого как для регенерации костной ткани, так и для биосинтеза фосфолипидов, которые активно используются для репаративных процессов клеточных мембран поврежденных тканей и органов в эти сроки.

## Выводы

- 1. При ТСТ наблюдается увеличение процессов ДНК-повреждений, ассоциирующееся с усилением клеточной гибели.
- 2. У больных с тяжелой сочетанной травмой, кровопотерей и нарушением гемодинамики в ранние сроки после травмы выявлены нарушения обмена холестерина и свободно-радикальных процессов, имеющих различия в группе выживших и умерших больных.
- 3. Динамика изменения общего холестерина, холестерина ЛПНП, общего белка, активности ГГТ и суммарного показателя свободно-радикальных процессов (8-гидрокси-2-дезоксигуанозин) может использоваться в качестве прогностических признаков.

Коллектив авторов выражает благодарность за участие в работе профессору Л. В. Молчановой и С. В. Малаховой.

#### Литература

- Гембицкий Е. В., Клячкин Л. М., Кириллов М. М. Патология внутренних органов при травме. М.: Медицина; 1994.
- Бессекеев А. А. Дислипидемия и ее коррекция у больных с тяжелой механической травмой: дис....канд.мед.наук. М.; 2006.
- Мороз В. В., Бессекеев А. А., Молчанова Л. В., Щербакова Л. Н. Особенности изменений некоторых показателей липидного обмена у больных с тяжелой механической травмой. Анестезиология и реаниматология 2003; 6: 4—7.
- Неговский В. А., Гурвич А. М., Золотокрылина Е. С. Постреанимационная болезнь. М.: Медицина; 1979.
- Goodyear-Bruch C., Pierce J. D. Oxidative stress in critically ill patients. Am. J. Crit. Care 2002; 11 (6): 543-553.
- Keel M., Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. Injury, Int. J. Care Injured 2005; 36: 691

  –709.
- 7.  $Pябов Г. А., Азизов Ю. М., Пасечник И. Н. и <math>\partial p$ . Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях. Вестн. интенс. терапии 2002; 4: 4—6.
- Пасечник И. Н. Окислительный стресс и критические состояния у хирургических больных. Вестн. интенс. терапии 2004; 3: 27—30.
- Жанатаев А. К., Дурнев А. Д., Середенин С. Б. Перспективы определения 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в качестве биомаркера окислительного стресса в эксперименте и клинике. Вестн. Рос. акад. мед. наук 2002; 2: 45—49.

- Goode H. F., Cowley H. C., Walker B. E. et al. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. Crit. Care Med. 1995; 23: 645

  –651.
- Richard C., Lemonnier F., Thibault M. et al. Vitamin E deficiency and lipoperoxidation during adult respiratory distress syndrome. Crit. Care Med. 1990; 18: 4—9.
- 12. Borrelli E., Rouz-Lombard P., Crau G. E. et al. Plasma concentrations of cytokins, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk. Crit. Care Med. 1996; 24: 392—397.
- 13. Oldham K. M., Bowen P. E. Oxidant stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial? J. Am. Diet. Assoc. 1998; 98: 1001—1008.
- 14. Lovat R., Preiser J. Antipxidant therapy in intensive care. Curr. Opin. Crit. Care 2003; 9: 266—270.
- Мороз В. В. (ред.) Фундаментальные проблемы реаниматологии: Тр. ин-та. 3. Шок. Введение в проблему. М.; 2003.
- Pachl J., Duska F., Waldauf P. et al. Apoptosis as an early event in the development of multiple organ failure. Physiol. Res. 2005; 54: 694

  –699.
- Дерябин И. И., Насонкин О. С. Травматическая болезнь. Л.: Медицина; 1987.
- 18. Голубев А. М., Москалева Е. Ю., Северин С. Е. и др. Апоптоз при критических состояниях. Общая реаниматология 2006; 5-6: 184-190.

Поступила 07.07.07.

### Уважаемые господа!

Приглашаем вас принять участие в VI Всероссийской междисциплинарной конференции «Критические состояния в акушерстве и неонатологии», которая состоится 20—24 мая 2008 года в городе Петрозаводске.

Соорганизаторы конференции: ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Московский областной НИИ акушерства и гинекологии, Республиканский перинатальный центр МЗ СРС РК, Санкт-Петербургская международная школа перинатальной медицины и репродуктивного здоровья, кафедра акушерства и гинекологии ПетрГУ, медиаинформационное агентство «ИнтелТек».

Президиум Ассоциации регионарной анестезии и лечения острой боли сообщает, что в эти же дни, 20—24 мая, в Петрозаводске состоится I Всероссийская конференция Ассоциации.

Среди запланированных освежающих лекций по акушерству, анестезиологии, неонатологии, регионарной анестезии, лечению боли — выступления ученых с мировым именем. В рамках мероприятий пройдет выставка медицинского оборудования и лекарственных препаратов отечественных и зарубежных производителей.

В последний день работы, 24 мая, участникам предоставляется возможность посетить уникальный историко-архитектурный и этнографический музей-заповедник на острове Кижи.

Для участия в любом из мероприятий необходимо заполнить и прислать в адрес оргкомитета регистрационную форму, а также оплатить организационный взнос. Ознакомиться с подробным анонсом и заполнить электронный вариант регистрационной формы можно также на официальном веб-сайте конференции: http://www.critical.ru/conf

Регистрационная форма участника должна быть получена оргкомитетом не позднее 01.04.2008 г.

Координаты локального оргкомитета конференции: 185035, Россия, г. Петрозаводск, а/я 72 Телефон: + 7 921 220 4444, + 7 921 220 5555 Факс: (8142) 57-00-84, 57-00-95

Адрес электронной почты: conf@critical.ru Официальный веб-сайт: http://www.critical.ru/conf Ответственный менеджер конференции — Рудакова Юлия Михайловна