

## ОБМЕН ЖЕЛЕЗА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПРИ СЕПСИСЕ

Э. Н. Баркова, Е. В. Жданова, В. В. Кузнецов, Л. Ф. Балабанова, О. Г. Сивков

Тюменская государственная медицинская академия  
Кафедра патофизиологии

### Iron Exchange and Prediction of Multiple Organ Dysfunctions in Sepsis

E. N. Barkova, Ye. V. Zhdanova, V. V. Kuznetsov, L. F. Balabanova, O. G. Sivkov

Department of Pathophysiology, Tyumen State Medical Academy

**Цель исследования** — определить закономерности нарушений биоритмов обмена железа и перекисидации липидов при сепсисе и разработать критерии для прогнозирования исходов гнойно-септических осложнений. **Материал и методы.** Обследовано 117 больных с благоприятным исходом течения сепсиса и при его осложнении ПОН и 108 здоровых мужчин (контрольная группа). Изучена суточная динамика концентрации общего и двухвалентного железа в сыворотке крови и моче, ОЖСС, малонового диальдегида, МСМ<sub>260</sub> и МСМ<sub>280</sub> в сыворотке крови, моче и эритроцитах. **Результаты** показали, что десинхронизация обмена железа при благоприятном течении сепсиса обусловлен ростом концентрации Fe<sup>2+</sup>, МДА и усилением протеолиза. Установлено, что в прогнозировании благоприятного исхода сепсиса важная роль принадлежит процессам детоксикации МСМ и элиминации МСМ почками. При неблагоприятном течении сепсиса и его осложнении ПОН значительный рост мезоров Fe<sup>2+</sup>, МДА и МСМ сопровождается инверсией их ритмов и снижением экскреции МСМ вследствие прогрессирующей острой почечной недостаточности. **Заключение.** Установлено, что десинхронизация метаболизма железа обусловлен интенсивным приростом его свободной фракции, инициирующей ПОЛ и мембранодеструктивные процессы. На этой основе разработан способ прогнозирования течения сепсиса и его осложнений полиорганной дисфункцией, что позволяет существенно снизить риск развития осложнений и летальность при гнойно-септических процессах. **Ключевые слова:** биоритмы, обмен железа, липоперекисидация, сепсис, эндотоксикоз, полиорганная недостаточность.

**Objective:** to define the mechanisms of impaired biological rhythms of iron exchange and lipid peroxidation (LPO) and to develop criteria for predicting the outcomes of pyoseptic complications. **Subjects and methods.** A hundred and seventeen patients with a good course of sepsis and its complication as multiple organ dysfunction (MOD) (a study group) and 108 healthy males (a control group) were examined. Twenty-four changes in the concentrations of total and ferrous iron (Fe<sup>2+</sup>) in the serum and urine, in those of OZhSS, malonic dialdehyde (MDA), MSM<sub>260</sub> and MSM<sub>280</sub> in the serum, urine, and red blood cells were studied. **Results.** With the good course of sepsis, iron exchange desynchronization was shown to be caused by elevated Fe<sup>2+</sup> and MDA concentrations and enhanced proteolysis. The processes of renal MSM detoxification and elimination were ascertained to play an important role in the prediction of a good outcome of sepsis. With the poor course of sepsis and its complication as MOD, considerable rises in Fe<sup>2+</sup>, MDA, and MSM mesors were followed by their rhythm inversion and diminished MSM excretion due to progressive acute renal failure. **Conclusion.** The desynchronized exchange of iron was found to be due to the intensive increase in its fraction that triggers LPO and membrane destructive processes. On this basis, the authors have developed a procedure for predicting the course of sepsis and its complication as MOD, which allows the risk of complications and death rates to be substantially reduced during pyoseptic processes. **Key words:** biorhythms, iron exchange, lipid peroxidation, sepsis, endotoxicosis, multiple organ dysfunction.

Актуальность проблемы интенсивной терапии сепсиса обусловлена ростом таких его осложнений как полиорганная недостаточность (ПОН) и инфекционно-токсический шок (ИТШ), летальность при которых достигает 60–80% [1–4]. С этих позиций особый интерес представляет поиск надежных маркеров системной воспалительной реакции и эндогенной интоксикации [4–7]. Установлено, что исход сепсиса находится в зависимости от функционального состояния печени, обеспечивающей фагоцитарный клиренс микроорганизмов, токсинов, ксенобиотиков и метаболитов [1, 4, 7]. Доказательства участия клеток Купфера в регуляции пространственно-временной организации обмена железа (ПВООЖ) позволили разработать информативные биоритмологические тесты для ранней диагностики токсического гепатоза [8–10]. Известно также, что при повреждении паренхимы печени в системном кровотоке возрастает концентрация двухвалентного железа (Fe<sup>2+</sup>) [11, 12]. Способность феррионов катализировать липоперекисидацию [13, 14] ставит вопрос о целесообразности исследования их роли в инициации реакций перекисидации липидов (ПОЛ), организующей каскад цитолитических процессов, — важнейшего звена в патогенезе эндотоксикоза при сепсисе [3, 7, 15].

Анализ пространственно-временной организации функциональной системы занял прочные позиции в разработке новых способов хронодиагностики и хронотерапии [16, 17]. В свете этих представлений изучение ритмической организации обмена железа и ПОЛ мотивировано отсутствием данных об особенностях их временной зависимости при сепсисе.

Цель работы — определить закономерности нарушений временной организации обмена железа и перекисидации липидов и разработать критерии для прогнозирования исхода гнойно-септических осложнений.

## Материалы и методы

Обследовано 117 больных в возрасте 25–35 лет, находившихся на лечении в отделении интенсивной терапии ЗАО МСЧ «Нефтяник» города Тюмени. Сепсис диагностировали по клинико-лабораторным признакам [18]. Для объективизации тяжести состояния и прогнозирования исхода заболевания использовали балльную систему APACHE II. Диагностику и оценку тяжести органных повреждений (полиорганной дисфункции) проводили по шкале SOFA. Обследовано 117 больных, которые были разделены на две группы. I группа включала 76 больных с верифицированным очагом инфекции, с числом признаков синдрома системного воспалительного ответа (ССВО)  $\geq 2$ , без ПОН (APACHE II < 17; SOFA < 4). II группа объединяла 41 больного с тяжелым сепсисом при наличии верифицированного очага инфекции, с числом признаков ССВО  $\geq 2$ , баллом по APACHE II > 17, по SOFA > 4, т. е. с признаками полиорганной недостаточности. Контрольную группу составили 108 здоровых мужчин в возрасте 25–35 лет, которые никогда не страдали заболеваниями печени, не имели острых и хронических гнойно-воспалительных заболеваний.

Концентрацию общего и двухвалентного железа в сыворотке крови и моче, ОЖСС определяли дифенилфенантролиновым методом (реактивы «LACHE-MA»). Активность ПОЛ оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА). Количество экскретируемого железа и МДА рассчитывали с учетом мочеобразования. Фазу эндотоксикоза идентифицировали по соотношению уровней средне-молекулярных пептидов (МСМ) на длинах волн 260 нм (МСМ<sub>260</sub>) и 280 нм (МСМ<sub>280</sub>) в сыворотке крови, моче и эритроцитах [15]. Исследуемые показатели определяли в 6, 12, 18 и 24 часа в крови из локтевой вены и моче.

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи компьютерной программы «Statgraphics Plus for Windows», а также по программе «Косинор» для расчета хронобиологических параметров: мезора — среднесуточной величины, амплитуды — наибольшего отклонения от мезора и акрофазы — времени максимального значения показателя. Степень взаимосвязи отдельных показателей оценивали по коэффициенту корреляции ( $r$ ) с последующим определением его достоверности ( $p < 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

У здоровых мужчин суточная динамика концентрации  $Fe^{2+}$  в сыворотке крови синхронизирована с содержанием продуктов ПОЛ. Его максимальные значения приходятся на вечерне-ночное время. Уровень общей сидеремии формируют 23%  $Fe^{2+}$  и 77%  $Fe^{3+}$  (рис. 1), что согласуется с основными положениями о ПВООЖ в здоровом организме [10].

У больных с благоприятным течением сепсиса (группа 1) сохранен циркадианный ритм концентрации общего сывороточного железа (ОСЖ), закономерный для здоровых людей. При акрофазе, соответствующей послеполуночному времени (15 ч), доверительные границы увеличены от 13.48 до 16.30 ч, а амплитуда возросла до  $3,54 \pm 0,31$  мкмоль/л (рис. 1). Анализ динамики составляющих сидеремии показал, что акрофаза  $Fe^{3+}$  (14.42 ч) и ее доверительные границы (13.24:16.24) совпадают почти на всем протяжении с аналогичными параметрами

для концентрации ОСЖ. Это подтверждает синхронность изменений общего и трехвалентного железа на протяжении суток. Корреляционный анализ убеждает в наличии сильной степени положительной зависимости между этими показателями ( $r = +0,94$ ;  $p < 0,05$ ).

Концентрация  $Fe^{2+}$  в сыворотке крови сохраняет динамику, закономерную для циркадианной периодичности. Увеличение среднесуточного значения при сокращении амплитуды свидетельствует о напряжении системы. Однако при сепсисе — даже в случаях его благоприятного исхода — коэффициент  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  сокращается до 2,37. Рост концентрации свободного железа сопровождается и увеличением доверительных границ его акрофазы. Очевидно, что при сепсисе растет не только абсолютный уровень инициатора свободнорадикального окисления липидов, но и увеличивается продолжительность его прооксидантного действия. В конечном итоге образуется избыточное количество продуктов липопероксидации — основных компонентов эндогенной интоксикации.

Инициальная роль свободного железа в стимуляции ПОЛ находит свое подтверждение в закономерной последовательности акрофаз для  $Fe^{2+}$ , МДА и МСМ (рис. 1). Более того, достоверное повышение мезора МДА в сыворотке крови на фоне сокращения амплитуды — доказательство напряжения системы ПОЛ-АОЗ. Суточная динамика экскреции микроэлемента с мочой свидетельствует о сохранении циркадианного ритма с акрофазой в 23.42 ч (22.18–01.24 ч). Максимум экскреции железа ( $2,72 \pm 0,45$  мкмоль) приходился на вечер (с 20.00 до 24.00 ч); минимум ( $0,84 \pm 0,28$  мкмоль) — на утро (с 06.00 до 10.00 ч) (рис. 2).

Мезоры концентрации МДА и МСМ в эритроцитах и плазме у больных с сепсисом превышали исходные значения в 1,3 раза, а двукратный рост их уровня в моче соответствует второй фазе эндотоксикоза [15], свидетельствуя об инициальной роли  $Fe^{2+}$  в стимуляции свободнорадикальных процессов и развитии цитолиза. Смещение акрофаз для  $Fe^{2+}$ , МДА и МСМ на ранние утренние часы — ранний признак десинхроноза, предвестник истощения антиоксидантной системы.

Из данных рис. 1 видно, что у больных с сепсисом — в случаях его благоприятного исхода — происходит рассогласование механизмов детоксикации и элиминации продуктов эндогенной интоксикации (ЭИ). Наиболее убедительно в этом аспекте значительное увеличение мезора МСМ<sub>260</sub> в эритроцитах, а также смещение акрофазы показателя с дневного времени на вечерние часы. Следствием повышенной токсической нагрузки клеток является закономерное насыщение метаболитами сыворотки, что и обусловило появление максимума МСМ<sub>260</sub>. Наибольший диурез в 6 ч утра обеспечивает максимальную элиминацию эндотоксинов. На протяжении суток уровень МСМ<sub>260</sub> в моче был достоверно выше, чем в сыворотке крови.

Усиление протеолиза при сепсисе перестраивает и циркадианную организацию МСМ<sub>280</sub> — маркеров несостоятельности детоксикационной функции гепатоци-

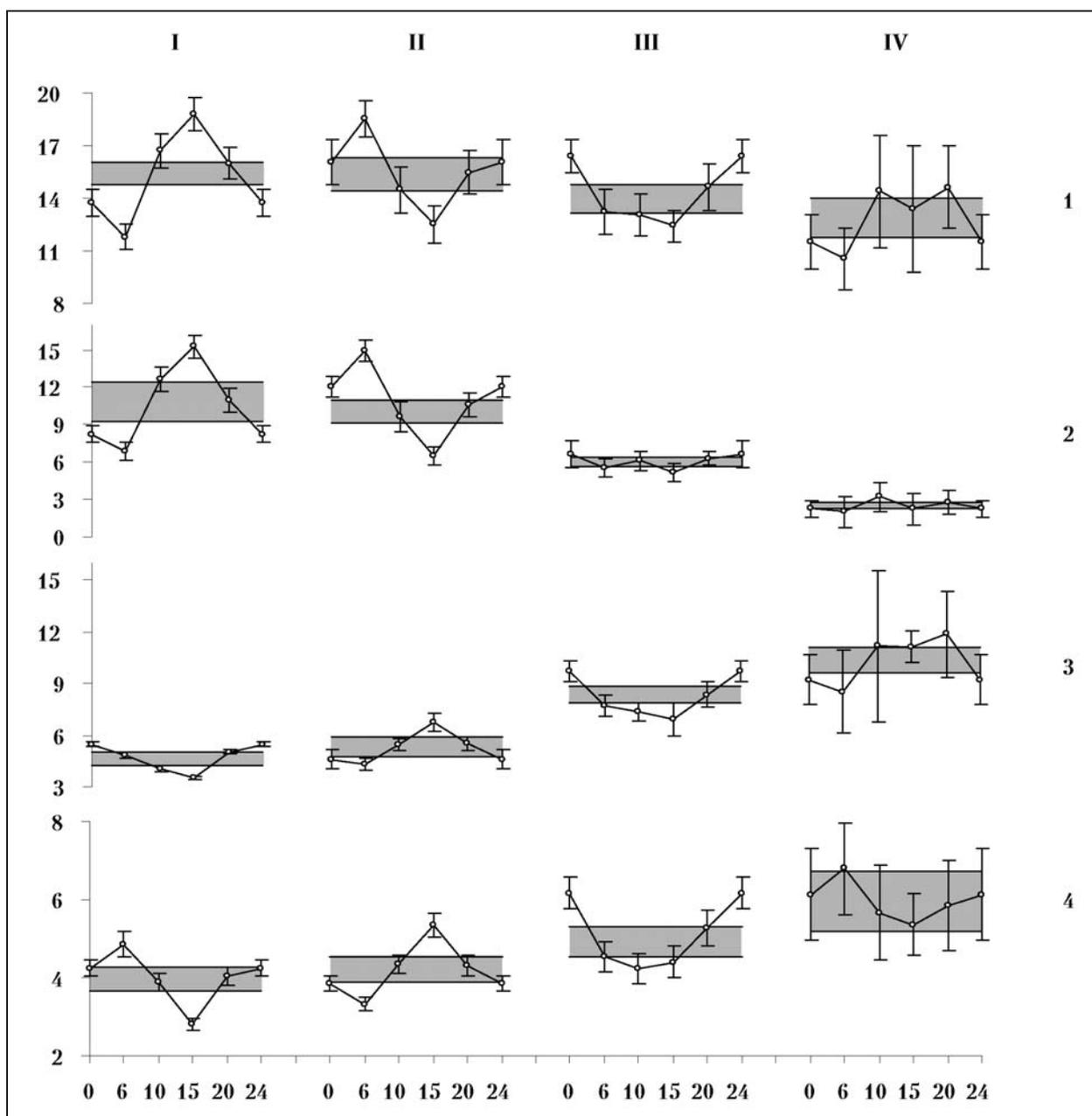


Рис. 1. Суточная динамика концентрации общего (1), трехвалентного (2), двухвалентного (3) железа, МДА (4) в сыворотке крови у больных мужчин: I – с благоприятным течением сепсиса; II – с неблагоприятным течением сепсиса; III – с благоприятным течением сепсиса + ПОН; IV – с неблагоприятным течением сепсиса + ПОН.

По оси абсцисс – время, часы; по оси ординат – мкмоль/л (1, 2, 3), нмоль/мл (4).

тов. Достоверное повышение среднесуточного уровня метаболита в сыворотке крови и эритроцитах свидетельствует о прогрессии ЭИ. Важную роль в освобождении организма от эндотоксинов играют почки: содержание  $\text{MCM}_{280}$  в моче на протяжении суток достоверно выше, чем в сыворотке крови.

Таким образом, в прогнозировании благоприятного исхода сепсиса важная роль принадлежит напряжению процессов детоксикации  $\text{MCM}_{260}$  и  $\text{MCM}_{280}$  и элиминации их почками. При этом следует поставить акцент на инициальную роль свободного железа в процессах цитолиза. В этом убеждает реципрокная зависимость между показателями уровня МСМ сыворотки

крови и эритроцитов ( $r=-0,85$  для  $\text{MCM}_{260}$  и  $r=-0,71$  для  $\text{MCM}_{280}$ ;  $p<0,05$ ). Кроме того, сохранены прямые корреляционные связи между уровнем МСМ сыворотки крови, с одной стороны, и концентрациями МДА ( $r=+0,72$  для  $\text{MCM}_{260}$  и  $r=+0,68$  для  $\text{MCM}_{280}$ ;  $p<0,05$ ) и двухвалентного железа сыворотки крови ( $r=+0,64$  для  $\text{MCM}_{260}$  и  $r=+0,73$  для  $\text{MCM}_{280}$ ;  $p<0,05$ ), – с другой стороны.

У больных с неблагоприятным течением сепсиса, осложненным в последующие сроки полиорганной недостаточностью, среднесуточный уровень общего железа колебался в диапазоне  $15,40\pm 0,95$  мкмоль/л, а трехвалентного железа –  $10,08\pm 0,87$  мкмоль/л, не имея достоверных различий с таковыми у здоровых мужчин и у пациентов с бла-

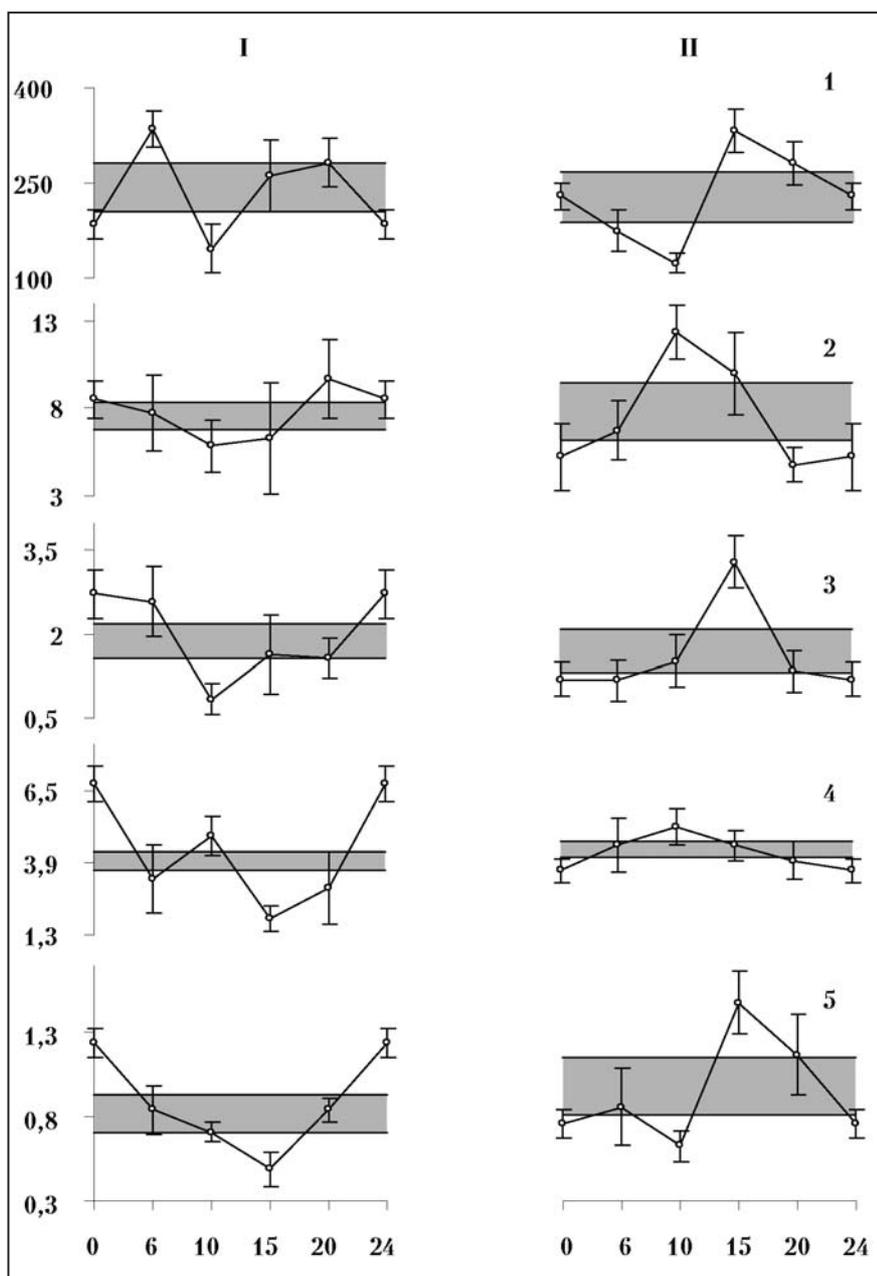


Рис. 2. Суточная динамика мочеобразования (1), концентраций железа (2) и МДА (4) в моче; экскреции железа (3) и МДА (5) с мочой у больных: I — с благоприятным течением сепсиса; II — с неблагоприятным течением сепсиса.

По оси абсцисс — время, часы; по оси ординат — мл (1), мкмоль/л (2,4), нмоль/мл (3,5).

гоприятным исходом сепсиса (рис. 1). Однако максимальные значения ОСЖ ( $18,57 \pm 1,04$  мкмоль/л) и трехвалентного железа ( $14,94 \pm 0,84$  мкмоль/л) приходились на ранние утренние часы, а минимальные (соответственно,  $12,52 \pm 1,09$  мкмоль/л и  $6,49 \pm 0,75$  мкмоль/л) — на дневное время. Акрофаза для сидеремии приходилась на 06.06 ч (04.42–07.56 ч), для трехвалентного железа — на 05.52 ч (04.36–07.40 ч). Таким образом, их циркадианные ритмы были инвертированы по отношению к таковым у больных с благоприятным исходом сепсиса.

Суточная динамика концентрации  $Fe^{2+}$  у больных 2-й группы была также инвертирована: максимальные значения ( $6,77 \pm 0,53$  мкмоль/л) приходились на днев-

ное время, а минимальные ( $4,28 \pm 0,35$  мкмоль/л) — на утренние часы. Среднесуточный уровень ( $5,32 \pm 0,56$  мкмоль/л) достоверно не отличался от мезора у больных 1-й группы.

На фоне десинхронизации ПВОЖ отмечен значительный рост мезоров концентрации  $Fe^{2+}$  и МДА плазмы. Более того, сохраняется прямая зависимость в динамике их концентраций на протяжении суток, однако изменения амплитудно-фазовых параметров статистически значимого циркадианного ритма свидетельствуют об его инверсии в сравнении с таковыми у больных с благоприятным исходом сепсиса. Максимальные значения МДА плазмы ( $5,33 \pm 0,31$  нмоль/мл, приходились на 15.00 ч, а минимальные ( $3,32 \pm 0,17$  нмоль/мл) — на 06.00 ч. Мезор колебался в пределах  $4,22 \pm 0,32$  нмоль/мл, что было достоверно больше, чем у здоровых и больных из 1-й группы. Синхронизация циркадианных ритмов для концентраций МДА и  $Fe^{2+}$  крови отражает недостаточность как антиоксидантной защиты (АОЗ), так и синтезируемых в печени белков, связывающих металлы с переменной валентностью. Очевидно, что активация ПОЛ, инициируемая  $Fe^{2+}$ , играет ведущую роль в патогенезе эндогенной интоксикации. В этом убеждает положительная корреляционная зависимость между уровнями МСМ в сыворотке крови, с одной стороны, и концентрациями МДА ( $r=+0,76$

для  $MSM_{260}$  и  $r=+0,72$  для  $MSM_{280}$ ;  $p<0,05$ ) и  $Fe^{2+}$  сыворотки, — с другой ( $r=+0,82$  для  $MSM_{260}$  и  $r=+0,78$  для  $MSM_{280}$ ;  $p<0,05$ ).

Сопоставление суточной динамики содержания  $MSM_{260}$  в эритроцитах, сыворотке крови и моче убеждает в том, что уровень продуктов цитолиза достоверно превышал аналогичные показатели у пациентов с благоприятным исходом сепсиса. В частности, наибольшая степень насыщения эритроцитов  $MSM_{260}$  отмечена при сохранении нормальных контуров циркадианного ритма. Напротив, достоверное превышение мезора метаболита в плазме сопровождалось инверсией ритма, что в значительной степени было связано с цитолизом. Важная роль в освобождении

организма от токсических продуктов принадлежит экскреторной функции почек: содержание метаболита в моче было достоверно выше, чем в плазме. Важно отметить, что циркадианный ритм экскреции МСМ<sub>260</sub> с мочой был нивелирован. При этом значительное увеличение содержания МСМ в сыворотке и превышение уровня метаболитов в моче свидетельствуют о перенапряжении экскреторных механизмов детоксикации (рис. 1, 2).

При неблагоприятном течении сепсиса, осложненном развитием и прогрессированием ПОН, акрофазы Fe<sup>2+</sup>, МДА и МСМ<sub>260</sub> (маркер гепатоцитолита) смещены с ночного времени на дневные часы при увеличении среднесуточного значения в 1,5 раза. Суточная динамика показателей концентрации Fe<sup>2+</sup>, МДА и уровня МСМ у больных с сепсисом и ПОН синхронизирована на всем протяжении суток, несмотря на интенсивную антиоксидантную терапию в предоперационном периоде (рис. 1). Десинхроноз сидерурии сопровождался двукратным увеличением экскреции железа с мочой (рис. 2). Мезоры МСМ в плазме и моче достигали максимальных значений, превышая нормативные показатели, соответственно, в 2,8 и 7,6 раза, что соответствует третьей стадии эндогенной интоксикации [15]. Инверсия ритмов концентраций Fe<sup>2+</sup>, МДА и МСМ в сыворотке крови приводила к синхронному смещению их экскреции с мочой.

Очевидно, что маркер неблагоприятного исхода сепсиса, осложненного ПОН — увеличение доли Fe<sup>2+</sup> в

структуре сидеремии до 70% и более. На фоне роста концентрации МСМ в плазме и падения их содержания в моче прогрессирует острая почечная недостаточность.

Полифункциональная оценка степени тяжести больного по шкале APACHE II показала, что при сепсисе средний балл колеблется в пределах 8,0±1,4. При осложнении синдромом полиорганной недостаточности он возрастает до 17,9±2,1. Динамическая оценка биоритмологических критериев ОСЖ обнаружила информативность и прогностическую значимость сидеремии. Так, среднее значение динамики для ОСЖ составило 23 мкмоль/л при сепсисе и 34,5 мкмоль/л — при ПОН. Следовательно, увеличение концентрации общего железа сыворотки, преимущественно за счет Fe<sup>2+</sup> в период с 15 до 24 часов более, чем на 23 мкмоль/л, достоверно свидетельствует о риске развития ПОН.

## Заключение

Таким образом, десинхроноз метаболизма железа обусловлен интенсивным приростом его свободной фракции, инициирующей ПОЛ и мембранодеструктивные процессы. На этой основе разработан способ прогнозирования течения сепсиса и его осложнений полиорганной дисфункцией, что позволяет корректировать интенсивную терапию и существенно снизить риск развития осложнений и летальность при гнойно-септических процессах.

## Литература

1. Гельфанд Е. Б., Гологорский В. А., Гельфанд Б. Р. Абдоминальный сепсис: интегральная оценка тяжести состояния больных и полиорганной дисфункции. Анестезиология и реаниматология 2000; 3: 29–33.
2. Руднов В. А. Сепсис на пороге XXI века: основные итоги, новые проблемы и ближайшие задачи. В кн.: 7 Всерос. съезд реаниматологов и анестезиологов. Лекции и программные докл. СПб.; 2000. 83–87.
3. Лейдерман И. Н. Синдром полиорганной недостаточности. Метаболические основы. Лекция. Часть 1. Вестн. интенс. терапии 1999; 2: 8–13.
4. Костюченко А. Л., Бельских А. Н., Тулунов А. Н. Интенсивная терапия послеоперационной раневой инфекции и сепсиса. СПб.: Фолиант; 2000.
5. Гринев М. В., Громов М. И., Комраков В. Е. Хирургический сепсис. СПб. М.; 2001.
6. Bone R. C., Grodzin C. J., Balk R. A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997; 112: 235–243.
7. Ерохин И. А., Шашков Б. В. Эндотоксикоз в хирургической клинике. СПб.: Logos; 1995.
8. Баркова Э. Н., Гуров О. В. Суточная динамика продолжительности гексеналового наркоза при экспериментальном гепатозе. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1995; 5: 540–543.
9. Баркова Э. Н., Гуров О. В., Гурова О. П. Роль печени в регуляции биоритмов сидеремии у кроликов при острой алкогольной интоксикации. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1993; 7: 147–149.
10. Баркова Э. Н., Жданова Е. В., Курлович Н. А. Хронофизиология и хронопатология обмена железа. Екатеринбург: Полиграфист; 2001.
11. Риль О. Ю., Емельянов А. Г., Иванов И. Б. Обмен железа при вирусном гепатите А и пути коррекции гиперферментемических состояний. Мед. журн. Узбекистана 1989; 2: 11–13.
12. Gutteridge J. M. C., Quinlan G. J., Mumby S. et al. Primary plasma antioxidants in adult respiratory distress syndrome patients: Changes in iron-oxidizing, iron-binding, and free radical-scavenging proteins. J. Lab. Clin. Med. 1994; 124: 263–273.
13. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука; 1972.
14. Козлов А. В., Вдовин А. В., Азизова О. А., Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов и свободное Fe<sup>++</sup> при ишемии и реоксигенации печени. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1987; 8: 165–167.
15. Оболенский С. В., Малахова М. Я., Ершов А. М. Диагностика стадии эндогенной интоксикации и дифференцированное применение методов эфферентной терапии. Вестн. хирургии 1991; 3: 95–100.
16. Комаров Ф. И., Рапопорт С. И. Хронобиология и хрономедицина. М.: Триада-Х; 2000.
17. Романов Ю. А. От хронобиологии к хронопобологии. Вестн. Рос. АМН 2000; 8: 8–11.
18. Bone R. C., Balk R. A., Cerra F. B. Definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of Innovative the therapy in sepsis. Crit. Care Med. 1992; 20: 864–874.

Поступила 05.05.06