

А.Г. Соловьёва, А.К. Мартусевич, С.П. Перетягин, Н.В. Диденко

Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии, Российская Федерация

Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой

Цель исследования: произвести мультипараметрический анализ метаболического профиля крови в раннем периоде ожоговой болезни. **Материалы и методы:** исследована кровь 15 взрослых практически здоровых людей (контрольная группа) и 60 больных с термической травмой (основная группа — лица с ожогами II–IIIА, В степени площадью поражения более 15% поверхности тела). Оценивали параметры липидного спектра плазмы, уровень глюкозы, лактата, малонового диальдегида, активность ферментов плазмы крови и эритроцитов. **Результаты:** у пациентов с ожогами свыше 15% поверхности тела в ранние сроки после травмы верифицированы выраженные метаболические нарушения, проявляющиеся в возникновении тканевой гипоксии, повышении активности трансаминаз и оксидоредуктаз в плазме крови, угнетении детоксикационной системы организма, развитии окислительного стресса. Обнаружено сопряжение метаболических сдвигов, возникающих при развитии ожоговой болезни, проявляющееся в существовании многочисленных корреляций между изучаемыми показателями и имеющее место уже с первых суток с момента травмы. **Выводы:** полученные данные расширяют представления о сопряженности метаболических сдвигов каталитических свойств ферментов крови, формирующихся в ранний период ожоговой болезни (явление системной метаболической дезадаптации), и позволяют уточнить диагностическую информативность некоторых биохимических параметров крови в оценке состояния пациента с термической травмой.

Ключевые слова: ожоги, метаболизм, трансаминазы, оксидоредуктазы, малоновый диальдегид. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 22–25)

22

Введение

Ожоговая болезнь, развивающаяся в результате получения глубоких и/или обширных ожогов, сопровождается полиорганной дисфункцией различной степени выраженности, зависящей от тяжести полученной травмы [1–5]. Известно, что в патогенезе ожоговой болезни присутствуют нарушения системной гемодинамики, микроциркуляции, возникают окислительный стресс, выраженная гипоксия, массивный выброс цитокинов, провоспалительных медиаторов, дистрофические и некробиотические процессы, определяющие развитие полиорганной недостаточности [3, 5–7]. Следует отметить, что последняя имеет преимущественно метаболическую природу, поскольку обусловлена формированием специфической эндогенной интоксикации [2, 5, 6, 8]. Вследствие этого логично предполагать развитие нарушений

многих компонентов обмена веществ при данном патологическом состоянии, что и было продемонстрировано рядом исследователей для отдельных метаболитов и их групп [2, 3, 5]. В то же время системный анализ метаболических нарушений, возникающих при ожоговой болезни, в доступных литературных источниках отсутствует, несмотря на утвердившиеся представления о данном варианте травматической болезни как патологии организменного уровня [3]. Ранее нами предпринимались попытки комплексной оценки сдвигов обмена веществ при термической травме в условиях ее моделирования на животных [7] и у человека [1, 6, 9], но эти работы затрагивали только отдельные звенья метаболизма.

Цель исследования: произвести мультипараметрический анализ метаболического профиля крови в раннем периоде ожоговой болезни.

A.G. Soloveva, A.K. Martusevich, S.P. Peretyagin, N.V. Didenko

Nizhny Novgorod research institute of traumatology and orthopaedics, Russian Federation

System Analysis of Metabolic Profile of Blood in Patients with Thermal Trauma

Aim: to make multiparametric analysis of blood metabolic profile in early period of burn disease. **Materials and methods:** we tested blood samples of 15 healthy adults (control group) and 60 patients with thermal trauma (main group — II–IIIА, В degree of burn, more then 15 bsp). Parameters of lipid metabolism, level of glucose, lactate, malonic dialdehyde and some enzymes in blood plasma and erythrocytes were estimated. **Results:** in early period of burn disease we fixed the clear metabolic disorders, including tissues hypoxia, activation of plasma transaminases and oxidoreductases, inhibition of detoxication system, induction of oxidative stress. Connection of metabolic changes, associated with burn disease, was registered. It supported by numerous correlations between studied parameters, formed from first day after trauma. **Conclusions:** our data expand the knowledge about mating metabolic changes of catalytic activity of blood enzymes, forming in early period of burn disease (system metabolic disadaptation), and diagnostic value of some blood biochemical parameters in estimation of burned patient metabolism.

Key words: burn, metabolism, transaminases, oxidoreductases, malonic aldehyde.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 22–25)

Материалы и методы

Материал для исследования

Объектом изучения была кровь 15 взрослых практически здоровых людей (контрольная группа) и 60 больных с термической травмой (основная группа — лица с ожогами II–III А, В степени площадью поражения более 15% поверхности тела).

Методы исследования

В плазме крови пациентов с ожогом в 1-е сут после травмы и лиц контрольной группы определяли липидный спектр — триглицериды, холестерол липопротеидов высокой плотности (ХЛ ЛПВП), холестерол липопротеидов низкой плотности (ХЛ ЛПНП), а также содержание глюкозы, лактата, церулоплазмينا, активность α -амилазы, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартат-амино-трансферазы (АСТ), гаммаглутамил-трансферазы (ГГТ), креатинкиназы (КК), креатинкиназы МВ (КК-МВ), α -гидроксибутиратдегидрогеназы (ГБДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), липазы. Исследования осуществляли с помощью высокопроизводительного полуавтоматического биохимического анализатора CLIMA MC-15 (Испания). Для проведения анализа были использованы наборы реагентов DiaSys (Германия). В гемолизате эритроцитов (1:40) определяли активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) по Б.М. Кершенгольц, Е.В. Серкиной на спектрофотометре Power Wave XS (США) [10]. Содержание малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах и плазме крови оценивали по методу В.Г. Сидоркина, И.А. Чулошниковой [11].

Статистическая обработка данных

Результаты анализировали при помощи программы Statistica v. 6.0 (Statsoft Inc., США). Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскела–Уоллиса. Для получения коэффициента парной корреляции использовали метод Спирмена. Данные представляли в формате $M \pm m$. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Рассчитывали истинный уровень статистической значимости различий средних значений показателей и коэффициента парной корреляции.

Результаты и обсуждение

В соответствии с результатами ранее проведенных исследований, уже с 1-х сут после получения термической травмы наблюдается повышение активности ряда ферментов плазмы крови. В частности, регистрируют значимое увеличение каталитической активности всех исследуемых энзимов класса трансфераз по сравнению с показателями у практически здоровых людей (табл. 1): АЛТ — в 1,5 раза ($p = 0,026$), АСТ — в 2,24 раза ($p = 0,004$), ГГТ — в 2,12 раза ($p = 0,001$), общей КК — в 4,3 раза ($p < 0,001$), КК-МВ — в 2,3 раза ($p = 0,003$).

Наряду с трансферазами в 1-е сут после ожога возрастает активность таких оксидоредуктаз, как ЛДГ в 1,93 ($p = 0,001$) и ГБДГ (изофермент ЛДГ) в 1,30 ($p = 0,006$) раза, по сравнению с усредненными значениями показателей у здоровых людей.

Установленная динамика каталитической активности и/или содержание ферментов в биологической жидкости указывают на нарушение функционирования гепатобилиарной системы (ГГТ, АЛТ, ЛДГ), миокарда (АСТ, КК-МВ, ГБДГ), а также почек (ЛДГ, ГБДГ). Кроме того, о задействованности миокарда в реализации данного варианта травматической болезни свидетельствует нарастание коэффициента де Ритиса [8, 12]. Данные тенденции должны рассматриваться как компонент патогенеза ожоговой болезни, в дальнейшем участвуя в формировании эндогенной интоксикации [5]. В этом плане известно, что, в частности, активность ЛДГ и КК возрастает при различных травмах независимо от их этиологии, а также в условиях травматического шока [12]. В то же время характер изменения каталитических свойств отдельных энзимов определяется видом полученной травмы [12]. Традиционно реактивную гиперферментемию в ответ на серьезную травму принято рассматривать как результат нарастания содержания ферментов в крови за счет их попадания в кровоток из поврежденных органов и тканей на фоне продолжающегося биосинтеза. С другой стороны, не менее значимым механизмом, который способен обеспечивать повышение активности рассматриваемых энзимов, является стимуляция каталитических свойств последних. Указанные процессы, ассоциированные с нарушениями внутриклеточной модуляции метаболизма и обусловленные дисбалансом молекулярных регуляторов активности ферментов, реализуют свое действие преимущественно через конформационные перестройки энзимов [13].

Таблица 1. Ферментативная активность в крови больных с термической травмой

Показатель	Контрольная группа (n =15)	Основная группа (n =60)
α -Амилаза, Е/л	66,52±12,02	67,34±9,12
Аланинаминотрансфераза, Е/л	22,50±3,46	33,80±5,97*
Аспаратаминотрансфераза, Е/л	24,71±5,38	55,33±8,28*
Коэффициент де Ритиса	1,10±0,12	1,64±0,11*
Гаммаглутамилтрансфераза, Е/л	29,50±7,13	62,11±11,78*
Креатинкиназа, Е/л	105,51±20,46	453,52±69,30*
Креатинкиназа МВ, Е/л	16,71±2,99	38,48±7,06*
α -Гидроксибутиратдегидрогеназа, Е/л	127,64±9,98	165,96±12,98*
Лактатдегидрогеназа, Е/л	205,89±32,55	397,20±28,52*
Щелочная фосфатаза, Е/л	211,37±34,68	238,21±23,19
Липаза, Е/л	29,61±4,34	23,91±5,02
Альдегиддегидрогеназа, нмоль НАДН/мин × мг белка	22,53±3,08	5,34±1,29*

Примечание (здесь и в табл. 2). * — различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми ($p \leq 0,05$).

Интересен тот факт, что в 1-е сут после термической травмы не обнаруживают значимых сдвигов активности изучаемых гидролаз в плазме крови (α -амилазы, ШФ, липазы). Несмотря на потенциальное участие поджелудочной железы в ответе организма на травматический шок [3, 7], эти данные свидетельствуют о недостаточной диагностической информативности определения рассмотренных ферментов.

В эритроцитах было обнаружено значимое снижение активности фермента биотрансформации АлДГ в 4,3 раза ($p < 0,001$) по сравнению с ее активностью у практически здоровых людей, что может привести к накоплению высококотоксичных альдегидов (см. табл. 1). При этом известно, что последние в повышенных концентрациях нарушают структуру и функции плазматических мембран, выступают ингибиторами многих ферментов мембран клеток организма, вызывают образование внутри- и межмолекулярных сшивок полипептидов [14].

С целью оценки системных сдвигов метаболизма в ранний посттермический период был проведен корреляционный анализ рассмотренных показателей, верифицирующий сопряженность функционирования ферментных систем в условиях исследуемого варианта травматического шока. Установлено, что имеют место многочисленные прямые корреляции между уровнями активности изученных энзимов: АЛТ и ГБДГ ($r = 0,42$; $p = 0,010$), ЛДГ и АЛТ ($r = 0,45$; $p = 0,006$), АСТ и КК ($r = 0,35$; $p = 0,039$), АСТ и ГБДГ ($r = 0,54$; $p = 0,001$), АСТ и ЛДГ ($r = 0,56$; $p = 0,001$), КК и КК-МВ ($r = 0,70$; $p < 0,001$), КК и ГБДГ ($r = 0,31$; $p = 0,046$), КК и ЛДГ ($r = 0,53$; $p < 0,001$), КК-МВ и ЛДГ ($r = 0,66$; $p < 0,001$), а также ГБДГ и ЛДГ ($r = 0,61$; $p < 0,001$). Это свидетельствует о сопряженности ответа ферментных систем на термическую травму, создавая предпосылки для последующей многоуровневой метаболической адаптации [7].

Следует отметить, что нарастание активности исследуемых трансфераз и оксидоредуктаз в плазме крови и снижение каталитических свойств АлДГ в эритроцитах имеют большое прогностическое значение, поскольку указывают на комплексность ответа системы ферментативной детоксикации органов и тканей на термическую травму [2, 5].

Обнаруженное ингибирование эритроцитарной АлДГ (табл. 2), наблюдаемое в раннем периоде ожоговой болезни, ассоциировано с установленным нами резким увеличением концентрации маркера интенсивности липопероксидации МДА в эритроцитах (в 1,9 раза по отношению к показателям практически здоровых людей; $p = 0,021$). Кроме того, в 1-е сут после ожога имеет место отрицательная корреляция между показателями активности АлДГ и уровнем МДА в эритроцитах ($r = -0,36$; $p = 0,032$).

Вторым компонентом метаболического профиля, проанализированным для пациентов с термической травмой, была оценка липидного обмена. Показано, что в плазме крови больных с ожоговой болезнью наблюдается повышение концентрации ХЛ ЛПВП в 1,71 раза по сравнению с показателями здоровых людей ($p = 0,012$), что может рассматриваться как косвенный признак развития интоксикации с вовлечением в патологический процесс печени [5]. Наличие метаболической взаимосвязи между состоянием ферментной детоксикации и липидным обменом в послеожоговом периоде подтверждено наличием отрицательной корреляции между активностью АлДГ и количеством ХЛ ЛПВП ($r = -0,91$; $p = 0,001$) и положительной — между уровнем МДА и содержанием ХЛ ЛПВП ($r = 0,56$; $p = 0,001$). Из этих данных следует, что показатели МДА и ХЛ ЛПВП информативны в плане оценки выраженности метаболических нарушений и степени адаптации организма к травматическому (ожоговому) стрессу.

Согласно нашим данным, термическая травма сопровождается также значительными трансформациями метаболизма углеводов, что выражается в форме существенного повышения концентрации глюкозы в плазме крови (в 1,35 раза; $p = 0,023$) по сравнению с практически здоровыми людьми (см. табл. 2). Это может быть обусловлено нейрогенным влиянием на глюкокортикоидную активность коры надпочечников, в результате чего усиливаются процессы гликогенолиза и глюконеогенеза, что приводит к гиперметаболической перестройке в организме. В то же время клетка в условиях гипоксии более интенсивно расходует глюкозу с образованием лактата. Кроме того, периферические ткани выбрасывают большие количества этого субстрата в системный кровоток для синтеза глюкозы в печени. Выраженность анаэробного гликолиза, характеризующего тканевую гипоксию, стандартно оценивают по концентрации лактата в крови [4, 8]. Нами было зафиксировано его увеличение в 2,27 раза ($p = 0,003$) по сравнению с усредненным показателем практически здоровых индивидуумов (см. табл. 2). Следует подчеркнуть, что у всех пациентов имела место сильная положительная корреляция между плазменным уровнем глюкозы и лактата ($r = 0,74$, $p = 0,031$). Это обусловлено тем обстоятельством, что в условиях гипоксии клетка поддерживает энергетические потребности за счет активации процессов анаэробного гликолиза, который частично компенсирует недостаток АТФ, однако быстро вызывает накопление лактата [15]. При этом усиливается ацидоз, что в свою очередь вызывает повреждение клеточных мембран, сопровождающееся инициацией процесса перекисного окисления липидов [8, 15].

Системность молекулярных механизмов нарушений различных компонентов метаболизма в раннем периоде ожоговой болезни подтверждает обнаружение корреля-

24

Таблица 2. Показатели энергетического и липидного обмена крови больных с термической травмой

Показатель	Контрольная группа (n =15)	Основная группа (n =60)
Глюкоза, ммоль/л	5,15±0,37	6,92±0,42*
Лактат, ммоль/л	1,65±0,16	3,75±0,29*
Церулоплазмин, мг/дл	50,84±6,01	56,30±2,96
Триглицериды, ммоль/л	1,92±0,47	1,96±0,12
ХЛ ЛПВП, ммоль/л	1,95±0,11	3,33±0,37*
ХЛ ЛПНП, ммоль/л	3,01±0,38	2,93±0,23
МДА плазмы, нмоль/мл	1,32±0,08	1,44±0,23
МДА эритроцитов, нмоль/мл	6,00±1,53	11,27±1,56*

Примечание. ХЛ ЛПВП — холестерол липопротеидов высокой плотности, ХЛ ЛПНП — холестерол липопротеидов низкой плотности, МДА — малоновый диальдегид.

ций между показателями, относящимися к различным функциональным блокам обмена веществ. В частности, установлена положительная корреляция между активностью ГГТ и концентрацией глюкозы ($r = 0,38$; $p = 0,019$), отражающая сопряженность энергетического обмена и процессов цитолиза. При этом известно, что увеличение активности ГГТ при термической травме происходит вследствие развития интоксикации и окислительного стресса, индуцирующих повышенную экспрессию фермента, в т.ч. и при кетоацидозе, сопровождающемся увеличением содержания глюкозы в крови.

Заключение

У пациентов с ожогами свыше 15% поверхности тела в ранние сроки после травмы наблюдаются вы-

раженные метаболические нарушения, проявляющиеся тканевой гипоксией (динамика содержания глюкозы и лактата плазмы), повышением активности трансаминаз (АСТ, АЛТ, ГГТ, КК, КК-МВ) и оксидоредуктаз (ЛДГ, ГБДГ) в плазме крови, угнетением детоксикационной системы организма (АлДГ) на фоне развития оксидативного стресса (резкое нарастание уровня МДА в эритроцитах) и нарушением липидного профиля (повышение концентрации ХЛ ЛПВП). Полученные данные, с одной стороны, расширяют представления о сопряженности метаболических сдвигов, формирующихся в ранний период ожоговой болезни (явление системной метаболической дезадаптации), а с другой — позволяют уточнить диагностическую информативность некоторых биохимических параметров крови в оценке состояния пациента с термической травмой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соловьёва А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Трансформация некоторых параметров физико-биохимического гомеостаза крови в раннем периоде ожоговой болезни. *Клин. лаб. диагностика*. 2012; 9: 77–78.
2. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты. *Вестник РАМН*. 1995; 3: 9–13.
3. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии. *Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М.* 2008. 56 с.
4. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения). *Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб*. 2003. 128 с.
5. Шулаева Н.М., Куспиц Е.В., Шуковский В.В. Актуальные проблемы лечения синдрома эндогенной интоксикации у больных с тяжелой термической травмой. В сб.: *Избранные труды по комбустиологии. Саратов: Научная книга*. 2009. С. 120–135.
6. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Погодин И.Е. Метаболические аспекты ожогового эндотоксикоза. *Пат. физиол. и эксп. тер.* 2009; 1: 30–32.
7. Мартусевич А.К., Соловьёва А.Г., Мартусевич А.А., Перетягин П.В. Особенности функционально-метаболической адаптации организма в условиях травматического стресса. *Медицинский альманах*. 2012; 5: 175–178.
8. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Лабораторные методы диагностики неотложных состояний. *М.: Медицина*. 2002. 566 с.
9. Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Соловьёва А.Г., Лузан А.С., Квицинская Н.А. Исследование метаболического статуса при ожоговой болезни. *Вестн. неот. и восст. медицины*. 2008; 3 (9): 338–341.
10. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола. *Лабораторное дело*. 1981; 2: 126.
11. Сидоркин В.Г., Чулошникова И.А. Метод определения МДА в эритроцитах и плазме крови с помощью тиобарбитуровой кислоты. Авторское свидетельство СССР № 1807410. Опубликовано 07.04.1993 г. *Бюлл. № 13. М.* 1993.
12. Егорова М.О. Биохимическое обследование в клинической практике. *М.: Практическая медицина*. 2008. 143 с.
13. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. *М.: Медицина*. 1998. 704 с.
14. Ашмарин И.П. Алкогольдегидрогеназа млекопитающих — объект молекулярной медицины. *Усп. биол. химии*. 2003; (43): 3–18.
15. Нагорная Н.В., Четверик Н.А., Фёдорова А.А., Куриленко Я.В. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки. *В помощь педиатру*. 2008; 15 (6): 34–38.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Соловьёва Анна Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** sannag5@mail.ru

Мартусевич Андрей Кимович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** cryst-mart@yandex.ru

Перетягин Сергей Петрович, доктор медицинских наук, руководитель отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** psp-aro@mail.ru

Диденко Наталья Владимировна, лаборант-исследователь отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** natalika-nv@mail.ru