

## АКТИВНОСТЬ 5`-НУКЛЕОТИДАЗЫ И ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ДИНАМИКЕ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ

*Марина Алексеевна Старикова, Валерий Григорьевич Сидоркин,  
Александра Николаевна Сидоркина, Ира Геннадьевна Стрелкова*

*Лаборатория биохимии (руководитель – В.Г. Сидоркин) Нижегородского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии, e-mail: starikovama@mail.ru*

### Реферат

У пострадавших от ожогов на протяжении первых четырех недель с момента травмы исследована активность маркерных ферментов мембранных структур – 5`-нуклеотидазы и щелочной фосфатазы. Через 4 недели у пострадавших с тяжелой термической травмой выявлена отчетливо выраженная более высокая активность маркеров тканевого тромбопластина, чем у больных с ожогами 10–20% поверхности тела. Отмеченный факт может характеризовать более тяжелое течение патологического процесса, свидетельствовать о возрастании тромбоцитопении и микротромбирования сосудов внутренних органов у таких пациентов.

Ключевые слова: 5`-нуклеотидаза, щелочная фосфатаза, тромбоцитопения, ожоги.

5`-нуклеотидаза и щелочная фосфатаза – ферменты, прочно связанные с плазматическими клеточными мембранами. Повышение их активности в сыворотке крови свидетельствует об интенсивно протекающих в организме деструктивных процессах, разрушении клеток и тканей. Следствием поступления в кровоток в большом количестве фрагментов мембранных структур (липопротеиновых комплексов, состоящих из фосфолипидов и апопротеина III) является опасность активации процесса свертывания крови как по внешнему, так и по внутреннему пути [3], а сцепленные с ними ферменты оказываются индикаторами присутствия в крови как самого фактора III (тканевого тромбопластина), так и его гемокоагуляционной активности.

Использование 5`-нуклеотидазы для оценки уровня тканевого тромбопластина в кровотоке было обосновано путем исследования распределения активности фермента и данного фактора в субклеточных фракциях различных тканей человека, между которыми была обнаружена отчетливая положительная корреляция [4]. Маркером тромбопластина в биологических жидкостях может служить и щелочная фосфатаза, также сцепленная с мем-

бранами клеток [1]. Авторы считают, что увеличение активности данных ферментов является объективным критерием повреждения наружных клеточных мембран, возрастания риска тромбообразования и может использоваться в диагностике тромбоцитопений. Известно, что массивное поступление тромбопластина в кровяное русло приводит к одному из наиболее частых неспецифических нарушений гемокоагуляции – синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС), осложняющему различные заболевания (хирургические, инфекционные, онкологические, аутоиммунные и др.) [1, 3, 4, 13, 17]. Как показали наши исследования, синдром ДВС является одним из важнейших звеньев патогенеза ожоговой болезни [7]. Однако информации о динамике тромбопластической активности крови при термической травме в процессе развития ожоговой болезни, относящейся к категории ДВС-опасной базисной патологии, нами не обнаружено.

Целью работы являлось изучение изменения содержания тканевого тромбопластина в сыворотке крови у больных с ожогами на протяжении первых четырех недель с момента термической травмы на основе определения активности маркерных ферментов мембранных структур – 5`-нуклеотидазы и щелочной фосфатазы.

Обследованы пациенты, получившие термическую травму различной тяжести: 28 пострадавших с легкими ожогами (площадь поражения кожи – от 10 до 20%), 27 – с ожогами средней тяжести, тяжелыми и крайне тяжелыми (площадь ожога – 21% и более поверхности тела) в различные сроки с момента травмы. Контрольную группу составили здоровые люди в возрасте от 18 до 57 лет (активность 5`-нуклеотидазы в сыворотке крови была определена у 33 человек, щелочной фосфатазы – у 44).

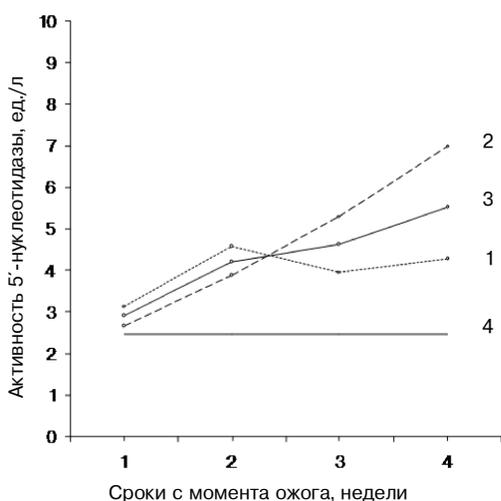


Рис. 1. Активность 5'-нуклеотидазы в различные сроки с момента травмы в сыворотке крови у пациентов: с площадью ожога от 10 до 20% поверхности тела (1), 21% и более (2), 10% (3), у практически здоровых лиц (4).

Активность 5'-нуклеотидазы изучали путем гидролиза аденозин-5'-монофосфата при избирательном ингибировании данного фермента ионами никеля [4] с последующим тестированием неорганического фосфата по методу Боданского с использованием спектрофотометра СФ46. Активность щелочной фосфатазы определяли по скорости гидролиза р-нитрофенилфосфата [9], адаптированному для анализатора EXPRESS PLUS (Ciba-Corning, Англия). Результаты исследований подвергнуты статистическому анализу с применением программы Stadia.

Установлено, что среднее значение активности 5'-нуклеотидазы у практически здоровых лиц составляет  $2,5 \pm 0,24$  ед./л ( $M \pm m$ ;  $n=33$ ). У пациентов с термической травмой (без учета площади поражения кожных покровов – суммарно, с ожогами 10% и более) на протяжении всего срока наблюдения прослеживалась отчетливая тенденция к возрастанию данного показателя. Начиная со второй недели с момента травмы по четвертую включительно были обнаружены достоверные отличия анализируемого показателя по сравнению с его усредненным значением в контроле ( $p < 0,02$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$  – на 2, 3 и 4-й неделях соответственно). При этом активность 5'-нуклеотидазы через одну неделю после ожога возрастала по сравнению с исходной величиной на 16%, через

2 недели – на 68%, через 3 – на 84%, через 4 – в 2,2 раза (рис. 1).

Дифференцированный анализ динамики активности 5'-нуклеотидазы в зависимости от тяжести термического поражения показал следующее. У пациентов с ожогами более 20% поверхности тела в течение всего времени наблюдения зафиксирован постоянный рост активности фермента. На третьей неделе активность 5'-нуклеотидазы поднималась до  $5,3 \pm 0,55$  ед./л ( $n=18$ ), а на четвертой – до  $7,0 \pm 0,97$  ед./л ( $n=16$ ). В данный период обнаруженные отличия изучаемого показателя по сравнению с аналогичным параметром в группе практически здоровых людей были статистически значимы ( $p < 0,001$ ). Если через неделю после термической травмы величина анализируемого показателя возрастала только на 8%, через 2 недели – на 56%, то через 3 и 4 недели – соответственно в 2,1 и 2,8 раза по сравнению с нормой.

У пациентов с легкими ожогами, как и с более тяжелой термической травмой, на протяжении всего срока наблюдения средние арифметические значения данного показателя оказались выше, чем в контрольной группе, однако достоверных отличий в активности 5'-нуклеотидазы выявлено не было. Вместе с тем отмечено, что на второй неделе по сравнению с остальными сроками имело место максимальное повышение активности фермента – до  $4,6 \pm 1,04$  ед./л ( $n=24$ ). На третьей и четвертой неделях данный параметр, незначительно снизившись, оставался практически на одном уровне.

Несмотря на то что статистически значимых отличий активности 5'-нуклеотидазы у пострадавших с различной тяжестью ожоговой травмы в одни и те же сроки с момента ожога обнаружено не было, следует подчеркнуть отчетливо выраженный более высокий уровень активности фермента через 4 недели после ожога в группе пациентов с площадью поражения кожных покровов свыше 20% поверхности тела ( $7,0 \pm 0,97$  ед./л;  $n=16$ ) по сравнению с таковой у больных, имевших менее тяжелые ожоги ( $4,3 \pm 1,00$  ед./л;  $n=19$ ). Можно предположить, что при увеличении количества наблюдений это различие могло быть достоверным.

Параллельно с активностью 5'-нуклео-

тидазы в сыворотке крови у обследованных контрольной группы и пациентов с ожогами изучалась активность другого фермента, связанного с мембранами — щелочной фосфатазы. Анализ динамики данного показателя выявил сходный характер изменений исследуемых ферментов. У пациентов без учета площади поражения кожи была выявлена тенденция к росту активности щелочной фосфатазы на протяжении всего срока наблюдения. Статистически значимые отличия по сравнению с контролем обнаружены со второй по четвертую неделю с момента травмы ( $p < 0,001$  — на 2-й,  $p < 0,01$  — на 3-й и 4-й неделе). Через неделю после ожога активность щелочной фосфатазы увеличилась на 7%, через 2 — на 33%, через 3 — на 30% и через 4 — на 40% по сравнению с нормой.

У пациентов с легкими ожогами на второй неделе с момента травмы был отмечен максимум подъема активности щелочной фосфатазы. При этом обнаружены отличия между усредненными значениями показателей в исследуемой ( $107,4 \pm 6,28$  ед./л;  $n=27$ ) и контрольной ( $82,3 \pm 2,50$  ед./л;  $n=44$ ) группах оказались достоверными ( $p < 0,001$ ). В последующие сроки (через 3 и 4 недели после термической травмы) анализируемый показатель снижался, приближаясь к величине усредненного значения параметра в условиях нормы.

У пациентов с ожогами на площади более 20% поверхности тела в течение четырех недель с момента травмы наблюдался отчетливо выраженный рост активности щелочной фосфатазы: через неделю по сравнению с контролем активность фермента увеличилась на 4%, через 2 недели — на 36%, через 3 — на 49% и через 4 недели — на 72%. Средние арифметические значения показателей у практически здоровых людей ( $82,3 \pm 2,50$  ед./л;  $n=44$ ) и у обожженных в данной группе статистически значимо различались начиная со второй недели после получения термической травмы и до конца наблюдения ( $p < 0,01$ ).

Сравнительный анализ активности щелочной фосфатазы сыворотки крови у пациентов с ожогами различной степени (в группе II и III) показал одинаправленность изменения анализируе-

мого параметра в период до двух недель после травмы и дивергентность — в последующие сроки (на 3 и 4-й нед.). При этом у больных с площадью ожога более 20% поверхности тела активность щелочной фосфатазы продолжала возрастать (до  $141,8 \pm 18,11$  ед./л;  $n=15$ ), а у пациентов с менее тяжелой термической травмой — снижаться. Различия изучаемых показателей у обожженных в обследованных группах в эти периоды наблюдения были статистически значимыми ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при исследовании динамики активности щелочной фосфатазы и 5'-нуклеотидазы в условиях ожоговой болезни были выявлены характерные изменения данных показателей.

В течение первой недели как у пострадавших с площадью поражения кожи от 10 до 20%, так и с ожогами более 20% поверхности тела рост активности исследуемых ферментов оказался незначительным. Можно предположить, что при термической травме в раннем периоде ожоговой болезни массивного поступления тканевого тромбопластина в кровяной ток из поврежденных тканей не происходит. Это, вероятно, обусловлено несколькими причинами: во-первых, вследствие формирования под обожженной кожей паранекротической зоны с нарушенным кровотоком, которая отделяет ожоговый струп и вторично омертвевшие ткани от таковой с нормальной жизнедеятельностью [2], во-вторых, вследствие тепловой денатурации и окислительной модификации тканевого фактора и его липидного компонента, ведущих к потере гемокоагуляционной активности этого соединения [5] и, в-третьих, по причине незначительного содержания данного фактора в коже, включая покоящиеся фибробласты [5]. Вероятно, в первые недели после термической травмы появляющийся в крови тканевой тромбопластин и связанная с ним активность 5'-нуклеотидазы и щелочной фосфатазы имеют преимущественно иное происхождение. Известно, что тканевый фактор локализуется на базолатеральной поверхности эпителиальных клеток, ограничивающих внутренние полости (слизистая кишечника и дыхательных путей), в местах повышенного риска возникновения геморрагий, например в астроцитах мозга и миоцитах сердца. Его находят на наружной клеточной мембра-

не гепатоцитов человека. Он отчетливо выявляется в адвентициальных клетках и перипитах, окружающих большинство кровеносных сосудов, а также в моноцитах/макрофагах, эндотелиоцитах и тромбоцитах [5, 12, 14, 18, 15].

Синтез тканевого фактора и образование микровезикул может быть индуцировано эндотоксинами, иммунными комплексами, фибронектином, С-реактивным белком, TNF, гипоксией, инфекцией, замедлением тока крови и др. [8, 11, 14, 19]. В то же время экспрессия его может подавляться повышенным уровнем цАМФ и некоторыми цитокинами [5, 10, 16]. Поэтому поступление тканевого фактора в кровь и связанная с ним соответствующая активность исследуемых ферментов у пострадавших от термической травмы в различные периоды ожоговой болезни будут зависеть от комплекса различных разнонаправленно действующих агентов, их сбалансированности и изменяться в соответствии с развитием патологического процесса во времени.

У обожженных независимо от площади поражения кожи в период до двух недель после травмы была показана односторонность изменений анализируемых параметров — отмечен рост активности ферментов. У пациентов с легкими ожогами увеличение активности 5'-нуклеотидазы и щелочной фосфатазы в течение первых двух недель сменялось в последующие сроки наблюдения их снижением, причем активность щелочной фосфатазы через 3 и 4 недели после термической травмы приближалась к норме. У пациентов с ожогами более 20% поверхности тела активность исследуемых ферментов продолжала постоянно возрастать на протяжении всех четырех недель наблюдения. Такое увеличение анализируемых показателей может происходить вследствие длительного воздействия на клетки крови и тканей различных негативных факторов и вести к прогрессированию нарушений обмена веществ, способствовать усилению микровезикуляции клеточных мембран и связанной с ней активностью исследуемых ферментов [6], которая в условиях более тяжелой термической травмы выражена в большей мере. Источником тромбопластина в более поздние сроки наблюдения могут быть также клетки

демаркационной зоны и расположенной под ожоговым струпом вновь образованной грануляционной ткани, замещающей поврежденные кожные покровы.

Таким образом, обнаруженное увеличение активности маркерных ферментов мембранных структур у обожженных с площадью поражения кожи свыше 20% поверхности тела, выраженное по сравнению с легкими ожогами в большей степени, свидетельствует о более глубоких изменениях, происходящих в организме пострадавших этой группы. В конечном итоге повышенная активность ферментов, маркеров тромбопластина в сыворотке крови показывает возросшую вероятность микротромбирования сосудов внутренних органов у пациентов с более тяжелыми ожогами и может служить дополнительным тестом в комплексном исследовании показателей состояния системы гемостаза при постановке диагноза синдрома ДВС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Андрушко И.А. Тромбопластинемия — инициатор непрерывной гемокоагуляции в организме и синдрома ДВС крови // Казанский мед.ж. — 1994. — № 3. — С. 185—187.
2. Арьев Т.Я. Термические поражения. — Л.: Медицина, 1966. — 704 с.
3. Байкеев Р.Ф. Тканевой тромбопластин // Казанский мед.ж. — 1988. — № 5. — С. 376—378.
4. Зубаиров Д.М., Андрушко И.А. Способ оценки тромбопластинемии по определению активности маркерного фермента 5'-нуклеотидазы: Мет. реком. — Казань, 1987. — 9 с.
5. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. — Казань: ФЭн, 2000. — 364 с.
6. Зубаирова Л.Д., Зубаиров Д.М., Андрушко И.А. и др. Функции и диагностическое значение микровезикул в крови / II Всероссийская научная конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» с международным участием. — М., 2005.
7. Сидоркина А.Н., Сидоркин В.Г., Преснякова М.В. Биохимические основы системы гемостаза и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови / — 4-е изд., перераб. и доп. — Н.Новгород: ННИИТО, 2008. — 154 с.
8. Bajaj M.S., Ghosh M., Bajaj S.P. Fibronectin-adherent monocytes express tissue factor and tissue factor pathway inhibitor whereas endotoxin-stimulated monocytes primarily express tissue factor: physiologic and pathologic implications // J. Thromb. Haemost. — 2007. — Vol. 5. — P. 1493—1499.
9. Bowers G.N.Jr., McComb R.B. A continuous

spectrophotometric method for measuring the activity of serum alkaline phosphatase //Clin.Chem. — 1966. — Vol. 12. — P.70–89.

10. *Ernoffsson M., Tenno T., Siegbahn A.* Inhibition of tissue factor surface expression in human peripheral blood monocytes exposed to cytokines //Br. J. Haematol. — 1996. — Vol. 95. — P.249–257.

11. *Franco R.F., de Jonge E., Dekkers P.E., Timmerman J.J. et al.* The in vivo kinetics of tissue factor messenger RNA expression during human endotoxemia: relationship with activation of coagulation //Blood. — 2000. — Vol. 96. — P.554–559.

12. *Lindmark E., Tenno T., Siegbahn A.* Role of platelet P-selectin and CD40 ligand in the induction of monocytic tissue factor expression //Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2000. — Vol.20, № 10. — P.2322–2328.

13. *Marsik C., Quehenberger P., Mackman N., Osterud B. et al.* Validation of a novel tissue factor assay in experimental human endotoxemia //Thromb. Res. — 2003. — Vol. 111. — P. 311–315.

14. *Paffen E., Vos H.L., Bertina R.M.* Creactive protein does not directly induce tissue factor in human monocytes //Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2004. — Vol. 24. — P. 975–981.

15. *Panes O., Matus V., G.Sőez C., Quiroga T. et al.* Human platelets synthesize and express functional tissue factor // Blood. — 2007— Vol. 109. — P.5242–5250.

16. *Poitevin S., CocheryNouvellon E., Dupont A., Nguyen P.* Monocyte IL-10 produced in response to lipopolysaccharide modulates thrombin generation by inhibiting tissue factor expression and release of active tissue factor-bound microparticles //Thromb. Haemost. — 2007. — Vol. 97. — P. 598–607.

17. *Santucci R.A., Erlich J., Labriola J., Wilson M. et al.* Measurement of tissue factor activity in whole blood // Thromb. Haemost. — 2000. — Vol. 83. — P.445–454.

18. *Szotowski B., Antoniak S., Poller W. et al.* Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines //Circ.Res. — 2005. — Vol. 96. — P.1233–1239.

19. *Van der Logt C.P., Dirven R.G., Reitsma P.H., Bertina R.M.* Expression of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in monocytes in response to bacterial lipopolysaccharide and phorbol ester //Blood Coagul. Fibrinolysis. — 1994. — Vol. 5. — P. 211–220.

Поступила 11.08.08.

#### THE ACTIVITY OF 5'-NUCLEOTIDASE AND ALKALINE PHOSPHATASE OF BLOOD SERUM IN THE DYNAMICS OF BURN DISEASE

*M.A. Starikova, V.G. Sidorkin, A.N. Sidorkina, I.G. Strelkova*

##### Summary

In patients who suffered from burns during the first four weeks from the moment of injury investigated was the activity of marker enzymes of membrane structures — 5'-nucleotidase and alkaline phosphatase. After 4 weeks in patients with severe thermal injury revealed was a clearly expressed higher activity of markers of tissue thromboplastin, than in patients with burns of 10-20% of their body surface. The noted fact may indicate a more severe course of the pathological process, and indicate the increasing thromboplastinemia and micro-thrombosis of vessels of internal organs in these patients.

Key words: 5'-nucleotidase, alkaline phosphatase, thromboplastinemia, burns.

УДК 616.24–002.5–089.8.168–037

## ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

*Зульфат Раифович Гарифуллин, Ханиф Киямович Аминев*

*Кафедра физиопульмонологии с курсом ИПО (зав. — проф. Х.К. Аминев) Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа*

##### Реферат

У 264 больных туберкулезом легких изучены результаты хирургического лечения в зависимости от выраженности лекарственной устойчивости к микобактериям туберкулеза и выявлена зависимость от неё эффективности оперативных вмешательств в отдаленные сроки и частоты послеоперационных реактиваций. Отказ от оперативных вмешательств при наличии показаний к хирургическому лечению приводит к резкому ухудшению результатов лечения больных лекарственно-резистентным туберкулезом легких и более чем в 2,5 раза повышает частоту реактивации туберкулеза и летальных исходов.

Ключевые слова: легкие, туберкулез, лекарственная устойчивость, хирургическое лечение.

В настоящее время лекарственно-резистентный туберкулез является глобальной проблемой здравоохранения как в России, так и во всем мире [3, 7]. Сохранение большого резервуара лекарственно-устойчивой туберкулезной инфекции в отдельных регионах нашей планеты, особенно в условиях высокого уровня миграции населения и повсеместного распространения ВИЧ-инфекции, представляет опасность не только для населения данной территории, но и для народов других регионов [1, 6, 8]. В общем комплексе мероприятий