

ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ У БОЛЬНЫХ С АБДОМИНАЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

[В. А. Валеева, Е. И. Верещагин, И. В. Беркасова, Е. И. Стрельцова](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития (г. Новосибирск)*

Проведены исследования показателей нутриционного статуса и обмена нуклеиновых кислот в сыворотке крови у больных с перитонитом/абдоминальным сепсисом на этапах интенсивной терапии. У пациентов исследовали показатели клеток крови, ЛИИ, уровень абсолютного количества лимфоцитов, концентрацию альбумина, общего белка и цДНК сыворотки крови на 1, 3 и 7-е сутки после проведения экстренного хирургического вмешательства. Выявлено резкое снижение концентраций общего белка, альбумина, абсолютного содержания лимфоцитов и эритроцитов на первом и втором этапах и постепенное повышение этих показателей к 7-м суткам наблюдения. Отмечена разнонаправленная динамика содержания нуклеиновых кислот в сыворотке крови у больных с тяжелым сепсисом и СВР. В одной группе содержание цДНК было достоверно ниже нормальных значений, для второй группы характерно значительное повышение уровня сывороточной цДНК.

Ключевые слова: абдоминальный сепсис, нутриционная недостаточность, циркулирующая ДНК (цДНК).

Валеева Влада Арнольдовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФПК и ППВ ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: vavaleeva@mail.ru

Верещагин Евгений Иванович — доктор медицинских наук, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФПК и ППВ ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: vereschagin.evgeny@yandex.ru

Беркасова Инесса Викторовна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФПК и ППВ ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», e-mail: ness-24@yandex.ru

Стрельцова Елена Ивановна — кандидат медицинских наук, руководитель отдела анестезиологии и реанимации ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФПК и ППВ

Сепсис и синдром системной воспалительной реакции (СВР) продолжают оставаться нерешенной проблемой медицины, занимая одно из первых мест в структуре общей смертности больных с острыми воспалительными заболеваниями абдоминальных органов, травмами, ожогами и др. В определенной мере этому способствуют увеличение количества пациентов пожилого и старческого возраста, повышение инвазивности диагностических и лечебных манипуляций, широкое применение методик, ослабляющих естественные защитные барьеры организма, как например профилактика стресс-язв путем снижения кислотности желудочного сока, искусственная вентиляция легких и др.

Возникающее при СВР/сепсисе резкое напряжение гемопоза связано с мощной активацией фагоцитов — макрофагов/моноцитов, гранулоцитов и других иммуннокомпетентных клеток. Следует отметить, что и в норме такие клетки, как гепатоциты, энтероциты, клетки лимфоидной ткани, и, особенно, клетки костного мозга продуцируются с высокой скоростью. В критических состояниях потребность в продукции костного мозга и иммунной системы возрастает многократно. Больные испытывают глубокий энергетический и пластический дефицит, связанный с нарушением доставки и потребления кислорода, белково-энергетической недостаточностью, синдромом аутокатаболизма, являющимся в какой-то мере универсальным типовым ответом на повреждение [1, 2]. Действительно, без разрушения собственного белка организм не получит необходимых компонентов для синтеза, например, белков острой фазы. Глутамин, высвобождаемый при распаде мышечной ткани, остро необходим для поддержания антиоксидантной системы, клеточной системы контроля апоптоза, поддержания иммунного статуса. Ресинтез нуклеиновых кислот также является глутаминзависимым процессом. Закономерности обмена нуклеиновых кислот у больных с сепсисом и СВР практически не изучены, хотя скорость деления и жизнеспособность клеток будет напрямую зависеть от интенсивности обмена нуклеиновых кислот.

Ранее считалось, что ДНК находится только в клеточных структурах: преимущественно в ядрах клеток и некоторое количество — в митохондриях. Впервые ДНК в образцах плазмы крови здоровых доноров была обнаружена в 1948 году [6]. Современные исследования дают цифры содержания цДНК (циркулирующей ДНК) в диапазоне 0–55 нг/мл. Власов с соавт. показали, что содержание цДНК в плазме крови здоровых людей составляет от 1,8 до 35 нг/мл [8]. В других работах предлагают считать нормальным диапазоном концентраций цДНК 0–50 нг/мл [5]. Особенное внимание исследователей привлекает тот факт, что содержание ДНК в плазме крови может увеличиваться при ряде заболеваний. Это придало совершенно четкое практическое значение дальнейшему изучению циркулирующих нуклеиновых кислот.

Известно, что основные источники появления цДНК в кровотоке — некроз или апоптоз ядросодержащих клеточных элементов крови или других клеток [4, 7]. Существует мнение, что при инфекционных процессах возможно появление в крови больных нуклеиновых кислот бактериальных или вирусных возбудителей. Однако, по данным ряда исследований, уровень экзогенной ДНК в кровообращении больных, как правило, не превышает нескольких десятков пкг/мл [3].

Следовательно, основное влияние на содержание цДНК плазмы крови оказывают эндогенные факторы: гибель ядросодержащих клеточных элементов, созревание

эритроцитов и тромбоцитов, активная секреция нуклеиновых кислот во внеклеточное пространство при повышенном метаболизме. Вместе с тем, свободные нуклеиновые кислоты в экстрацеллюлярном пространстве являются биологическими веществами с повышенной активностью. Во-первых, они быстро утилизируются клетками и принимают участие в ресинтезе нуклеиновых кислот. Низкое содержание нуклеиновых кислот в сыворотке крови обычно отмечается у истощенных пациентов и ассоциируется с миело- и иммуносупрессией. Во-вторых, фрагменты нуклеиновых кислот являются лигандами TLR-3 и TLR-9 типов. Активация моноклеарных клеток через эти рецепторы ведет к выбросу провоспалительных цитокинов. Таким образом, избыток нуклеиновых кислот в экстрацеллюлярном пространстве сам по себе способен активировать системное воспаление. В этой связи представляет интерес определение содержания свободной ДНК в плазме крови у больных с тяжелым SIRS и сепсисом.

Материалы и методы. Нами были обследованы 24 больных (14 мужчин, 10 женщин) в возрасте от 20 до 70 лет с диагнозом перитонит/абдоминальный сепсис различной этиологии, подтвержденным интраоперационно. Диагноз сепсиса выставлялся на основании совокупности операционных данных, посевов и наличия признаков СВР по рекомендациям, предложенным в 1992 году согласительной конференцией Американского колледжа пульмонологов (ACCP) и Общества специалистов критической медицины (SCCM) [4]. Всем больным после экстренного оперативного вмешательства проводилась стандартная терапия в ОРИТ по рекомендациям международного протокола лечения сепсиса/СВР.

Критерием исключения в группе были возраст старше 70 лет, онкологические заболевания, туберкулез, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) 3-й степени, тяжелая хроническая почечная недостаточность (ХПН). Всем пациентам обеспечено анестезиологическое пособие на основе тотальной внутривенной или ингаляционной анестезии.

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) определяли по методу Я. Я. Кальф-Калифом на 1, 3 и 7-е сутки исследования.

Кроме этого, у пациентов исследовали показатели клеток крови, уровень абсолютного количества лимфоцитов, концентрацию альбумина, общего белка и ДНК сыворотки крови на 1, 3 и 7-е сутки. Исследование было проведено в соответствии с этическими нормами и стандартами, принятыми на территории РФ.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 6 for Windows с использованием t-критерия Стьюдента.

Обсуждение результатов. Результаты исследования в общем согласуются с известными данными о резком напряжении иммунного ответа и развитии синдрома гиперкатаболизма-аутокатаболизма у больных с СВР. Так, ЛИИ в 1-е сутки исследования был повышен у 100 % больных и составил в среднем $9,615 \pm 1,037$ у. е. (норма до $1,6 \pm 0,5$ у. е.). Интересно отметить, что лейкоцитоз $> 8,0 \times 10^9/\text{мл}$ в первые сутки заболевания регистрировался у 86 % больных, а содержание лейкоцитов $> 12 \times 10^9/\text{л}$ (диагностический критерий СВР по ACCP/SCCM) только у 78 % пациентов. Количество незрелых форм нейтрофилов $> 10\%$ (также диагностический критерий СВР по ACCP/SCCM) отмечен нами на 1-м этапе не у всех больных. В дальнейшем наблюдалось постепенное снижение показателей ЛИИ: $6,44 \pm 0,74$ у. е. на 2-м этапе исследования ($p \leq 0,01$) и $3,96 \pm 0,433$ ($p \leq 0,001$) на 3-м этапе исследования (табл. 1). В целом, динамика ЛИИ более, на наш взгляд,

отражала динамику состояния пациентов, чем общее количество лейкоцитов, которое между 2-м и 3-м этапами исследования не изменялось.

Практически у всех больных отмечалась выраженная эритропения, в среднем $2,94 \times 10^{12}/л$, усугублявшаяся ко 2-му этапу исследования. На 3-м этапе отмечалось недостоверное повышение показателей содержания эритроцитов в крови больных абдоминальным сепсисом.

В то же время выявленная у наших больных динамика содержания тромбоцитов расходится с распространенным мнением о непременном угнетении тромбоцитарного роста при сепсисе/СВР. Глубокая тромбоцитопения (менее $150 \times 10^9/л$) отмечена только у одного пациента, в то время как у шести из 24-х больных выявлялся выраженный тромбоцитоз до $800 \times 10^9/л$. В общем, содержание тромбоцитов у больных на 1-м и 2-м этапах исследования не отличалось от нормальных показателей с явной тенденцией к увеличению к 3-му этапу исследования (табл. 1).

Таблица 1

Динамика изменений содержания лейкоцитов ($\times 10^9/л$), ЛИИ (у. е.), эритроцитов ($\times 10^{12}/л$) и тромбоцитов ($\times 10^9/л$) в крови у больных с абдоминальным сепсисом (n = 24) на этапах исследования ($M \pm m$)

	Количество лейкоцитов ($\times 10^9/л$)	ЛИИ (у. е.)	Количество эритроцитов ($\times 10^{12}/л$)	Количество тромбоцитов ($\times 10^9/л$)
1-е сутки	$18,01 \pm 2,161^*,***$	$9,615 \pm 1,037^*,***$	$2,94 \pm 0,13$	$287 \pm 39,4^*$
3-и сутки	$13,526 \pm 1,52$	$6,44 \pm 0,74^{**}$	$2,64 \pm 0,15$	$264 \pm 35,41^{**}$
7-е сутки	$14,05 \pm 1,25$	$3,96 \pm 0,433$	$2,73 \pm 0,12$	$387 \pm 47,2$

Примечание: отличия достоверны ($p \leq 0,05-0,001$);

* между первым и вторым этапом исследования;

** между вторым и третьим этапом исследования;

*** между первым и третьим этапом исследования

Еще более глубокие изменения показывали маркеры нутритивного статуса организма, демонстрировавшие, на наш взгляд, стремительное, бурное развитие синдрома гиперметаболизма-катаболизма. Особенно обращает внимание резкая абсолютная и относительная лимфопения на фоне выраженного лейкоцитоза. Так, на 1-м этапе исследования при общем содержании лейкоцитов $18,01 \times 103/мкл$ среднее количество лимфоцитов составило 1000 в мкл крови. К 3-м суткам абсолютное количество лимфоцитов в крови больных абдоминальным сепсисом еще снижалось и достигало значений 600 в мкл. На 7-е сутки регистрировался невыраженный подъем этого показателя (табл. 2).

Похожая динамика отмечалась и в отношении таких общепринятых маркеров нутритивно-белковой недостаточности, как общий белок и альбумин. Пиковое снижение этих показателей выявлялось в 1-е сутки: $46,42 \pm 1,4$ и $21,41 \pm 1,5$ г/л соответственно. В дальнейшем наблюдался медленный рост концентраций общего белка и альбумина плазмы крови, остававшихся к 3-му этапу значительно ниже нормы (табл. 2).

Таблица 2

Динамика изменений содержания лимфоцитов (в мкл), концентрации общего белка (г/л) и альбумина (г/л) в крови у больных с абдоминальным сепсисом (n = 24) на этапах исследования (M $\pm$ m)

	Количество лимфоцитов, мкл	Общий белок, г/л (норма 65–75 г/л)	Альбумин, г/л (норма 35–45 г/л)
1-е сутки	$1000 \pm 240^*$	$46,42 \pm 1,4^*,***$	$21,41 \pm 1,5^{***}$
3-и сутки	600 ± 132	$50,32 \pm 1,77^{**}$	$24,29 \pm 1,45$
7-е сутки	777 ± 243	$55,4 \pm 1,9$	$25,6 \pm 1,38$

В качестве маркера гомеостаза нуклеиновых кислот, отражающего, по нашему мнению, уровень метаболизма, мы определяли концентрацию цДНК сыворотки крови. За условную норму мы принимали показатель концентрации цДНК в сыворотке крови у здоровых доноров, составивший по нашим исследованиям 25–65 мкг/л, что вполне согласуется с литературными данными.

В обследованной группе больных по концентрации цДНК выделились две подгруппы. Так, у большинства больных с абдоминальным сепсисом (16 человек) выявлялось явное снижение содержания цДНК, не изменявшееся на 1, 2 и 3-м этапах исследования: $15,64 \pm 1,38$; $15,75 \pm 1,97$; $16,66 \pm 1,16$ мкг/л соответственно. Наименьший показатель цДНК плазмы крови, наблюдавшийся у больных, составил 3,69 мкг/л. Во второй, меньшей по количеству больных подгруппе (8 человек), наоборот отмечалось резкое повышение уровня цДНК. Диапазон концентраций цДНК у больных этой подгруппы на 1-м этапе составил 60,06–158,12 мкг/л, среднее значение $94,65 \pm 14,3$ мкг/л. На последующих этапах исследования существенной динамики не наблюдалось. Следует отметить, что обе подгруппы практически не различались по тяжести состояния, показателям крови, содержанию альбумина и общего белка. И в 1-й, и во 2-й подгруппах зарегистрировано по одному летальному исходу.

Таким образом, у больных с тяжелым сепсисом и СВР отмечена разнонаправленная динамика содержания нуклеиновых кислот в сыворотке крови. В одной группе содержание цДНК было достоверно ниже нормальных значений, для 2-й группы характерно значительное повышение уровня сывороточной цДНК. Очевидно, что на уровень цДНК влияли не только скорость поступления нуклеиновых кислот из поврежденных клеток, но и скорость их клиренса ретикулоэндотелиальной системой и другими клетками организма. На основании полученных данных можно сделать вывод, что уровень цДНК является важным параметром гомеостаза, и снижение или превышение критических значений этого показателя отмечаются при тяжелом сепсисе и СВР.

Учитывая высокую биологическую активность цДНК, требуется дальнейшее уточнение ее роли в развитии иммунопарализиса, или, напротив, циркуляторного шока при сепсисе.

Список литературы

1. Adjei A. A. A dietary nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-free diet / A. A. Adjei, S. Yamamoto // *Journal of Nutrition*. — 1995. — Vol. 125. — P. 42–48.
2. Artificial nutrition after major abdominal surgery: impact of route of administration and composition of diet / M. Braga, L. Gianotti, A. Vignali [et al.] // *Critical Care Medicine*. — 1998. — Vol. 26. — P. 24–30.
3. Patterns of circulating hepatitis B virus serum nucleic acids during lamivudine therapy / H. J. Hacker, W. Zhang, M. Tokus [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2004. — Vol. 1022. — P. 271–281.
4. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients : quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells / S. Jahr, H. Hentze, S. Englisch [et al.] // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61. — P. 1659–16654.
5. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy / S. A. Leon, B. Shapiro, D. M. Sklaroff, M. J. Yaros // *Cancer Res.* — 1977. — Vol. 37. — P. 646–650.
6. Mandel P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme / P. Mandel, P. Metais // *C. R. Acad. Sci. Paris*. — 1948. — Vol. 142. — P. 241–243.
7. Derivation of a prediction rule for posttraumatic organ failure using plasma DNA and other variables / T. H. Rainer, Y. M. Lo, L. Y. Chan [et al.] // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2001. — Vol. 945. — P. 211–220.
8. Vlassov V. V. Extracellular nucleic acids / V. V. Vlassov, P. P. Laktionov, E. Y. Rykova // *Bioessays*. — 2007. — Vol. 29. — P. 654–667.

INDICATORS OF NUCLEINIC ACIDS EXCHANGE AT PATIENTS WITH ABDOMINAL SEPSIS

V. A. Valeeva, E. I. Vereshchagin, I. V. Berkasova, E. I. Streltsova

SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment» (Novosibirsk c.)

Researches of indicators of the nutrition status and nucleic acids exchange in blood serum at patients with peritonitis / abdominal sepsis at intensive therapy are conducted. Indicators of blood cells, LII, level of absolute quantity of lymphocytes, albumine concentration, the general protein and cDNA of blood serum were investigated at patients on the 1, 3 and 7 days after performing emergency surgical intervention. Sharp decrease in concentration of the general protein, albumine, the absolute maintenance of lymphocytes and erythrocytes at the first and second stages and gradual increase of these indicators by 7th days of supervision is revealed. Multidirectional dynamics of nucleic acids content in blood serum at patients with serious sepsis and SIR is registered. The content of cDNA was authentic below normal values in one group, for the second group substantial increase of serumal cDNA level is indicative.

Keywords: abdominal sepsis, nutrition insufficiency, circulating DNA (cDNA).

About authors:

Valeeva Vlada Arnoldovna — candidate of medical sciences, assistant professor of anesthesiology and resuscitation chair FAT and CE at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: vavaleeva@mail.ru

Vereshchagin Evgeny Ivanovich — doctor of medical sciences, professor, head of anesthesiology and resuscitation chair of FAT and PDD at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: vereschagin.evgeny@yandex.ru

Berkasova Inessa Viktorovna — candidate of medical sciences, assistant of Anesthesiology and Resuscitation chair of FAT & PDD at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», anesthesiologist-resuscitator of anesthesiology and resuscitation unit at RCBGH «Novosibirsk State Regional Clinical Hospital Minhealthsocdevelopment», e-mail: ness-24@yandex.ru

Streltsova Elena Ivanovna — candidate of medical sciences, assistant professor of anesthesiology and resuscitation chair FAT and CE at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», head of resuscitation unit of SBHE ND " Novosibirsk State Clinical Hospital", e-mail: eistreltsova@mail.ru

List of the Literature:

1. Adjei A. A. A dietary nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-free diet / A. A. Adjei, S. Yamamoto // *Journal of Nutrition*. — 1995. — Vol. 125. — P. 42–48.
2. Artificial nutrition after major abdominal surgery: impact of route of administration and composition of diet / M. Braga, L. Gianotti, A. Vignali [et al.] // *Critical Care Medicine*. — 1998. — Vol. 26. — P. 24–30.
3. Patterns of circulating hepatitis B virus serum nucleic acids during lamivudine therapy / H. J. Hacker, W. Zhang, M. Tokus [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2004. — Vol. 1022. — P. 271–281.
4. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients : quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells / S. Jahr, H. Hentze, S. Englisch [et al.] // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61. — P. 1659–16654.
5. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy / S. A. Leon, B. Shapiro, D. M. Sklaroff, M. J. Yaros // *Cancer Res.* — 1977. — Vol. 37. — P. 646–650.
6. Mandel P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme / P. Mandel, P. Metais // *C. R. Acad. Sci. Paris*. — 1948. — Vol. 142. — P. 241–243.
7. Derivation of a prediction rule for posttraumatic organ failure using plasma DNA and other variables / T. H. Rainer, Y. M. Lo, L. Y. Chan [et al.] // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2001. — Vol. 945. — P. 211–220.
8. Vlassov V. V. Extracellular nucleic acids / V. V. Vlassov, P. P. Laktionov, E. Y. Rykova // *Bioessays*. — 2007. — Vol. 29. — P. 654–667.