

УДК 616.5-001.17:616.1-018.74-07(045)

МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Божедомов А.Ю.

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Минздрава России», Саратов, e-mail: alecso_84@mail.ru

В статье приводятся результаты изучения уровней факторов, прямо или косвенно отражающих повреждение эндотелия сосудов (фактор роста эндотелия сосудов, моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, эндотелин, интерлейкин-12, циркулирующие эндотелиальные клетки, С-реактивный белок) при термической травме различной степени тяжести. Полученные данные свидетельствуют о том, что более выраженное поражение эндотелиальной выстилки возникало в группе больных с индексом Франка более 90 баллов в сроки 7–15 суток с момента получения травмы. Повышение факторов поражения эндотелия согласуется с развитием у больных синдрома полиорганной недостаточности и может быть использовано для ранней диагностики этого осложнения.

Ключевые слова: ожоги, синдром полиорганной недостаточности, эндотелий

MARKERS OF DAMAGE OF THE ENDOTHELIUM AT THE THERMAL TRAUMA OF DIFFERENT SEVERITY LEVEL

Bozhedomov A.Y.

Saratov State Medical University, Saratov, e-mail: alecso_84@mail.ru

The present article describes study of levels of the factors expressly or by implication reflecting damage of an endothelium of vessels (vascular endothelial growth factor, monocyte chemoattractant protein-1, endothelin, interleukin-12, circulating endothelial cells, C-reactive protein) at a thermal injury of various severity levels. The received results testify to the expressed adverse influence on an endothelium of vessels throughout all investigation phases. More expressed lesion endothelial cells are noted in group of patients with an index of Franc more than 90 points in terms 7–15 days from the moment of trauma reception. Rising of factors of a lesion of an endothelium will be compounded with development in patients of a syndrome multiorgan failure also can be used for early diagnostics of this complication.

Keywords: burn, syndrome multiorgan failure, endothelium

Проблема ожоговой болезни и в настоящее время не теряет своей актуальности. Ежегодно в России более 15000 человек погибает от последствий термической травмы. В 91,3% случаев смерть больных при обширных ожогах наступает по причине развития полиорганной недостаточности (СПОН) [1]. Одним из ведущих механизмов развития полиорганной недостаточности является системное повреждение эндотелия сосудов [3]. Несмотря на свою актуальность и перспективность, этот вопрос остается малоизученным.

Цель работы: изучить закономерности изменения факторов поражения эндотелия сосудов на разных сроках течения ожоговой болезни.

Материалы и методы исследования

В Саратовском центре термических поражений проведено продольное проспективное исследование, в которое вошли 32 пациента, находившиеся на лечении с термической травмой на протяжении 2010 года. Критерием включения в исследование было наличие термического ожога, оцененного по индексу Франка в 30 и более баллов. В исследование не включали лиц моложе 16 и старше 60 лет, а также пациентов с политравмой, тяжелыми сопутствующими заболеваниями, беременных женщин. Среди пациентов было 23 мужчины, 9 женщин. Средний возраст больных – $43,8 \pm 2,8$ лет. Общая летальность составила 13 пациентов (40,6%), из них 12 больных (92,3%)

умерли от СПОН. Больные по тяжести полученной травмы были разделены на 2 группы: первую группу составил 21 пациент с тяжестью травмы по индексу Франка менее 90 баллов, вторую группу составили 11 больных с индексом Франка 90 баллов и более. Характеристика групп больных приведена в табл. 1.

Таблица 1
Характеристика групп больных, включенных в исследование

Группа	Мужчины/ женщины	Средний возраст	Леталь- ность
1-я группа (n = 21)	15/6	$44,8 \pm 3,2$	5 (23,8%)
2-я группа (n = 11)	8/3	$42,0 \pm 5,4$	8 (72,7%)

Всем больным помимо общеклинического, биохимического, коагулометрического анализов крови выполнялось определение концентрации в плазме крови фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС), моноцитарного хемоаттрактантного протеина (МСП-1), общего эндотелина, интерлейкина-12 (ИЛ-12), циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК), С-реактивного белка (СРБ). Обследование пациентов проводили в следующие сроки: 1-е сутки (период ожогового шока), 3-и сутки (период выхода больных из ожогового шока), 7-е сутки (период интоксикации), 15-е сутки (период очищения ран от некротических тканей и их инфицирования), 30-е сутки (период эпителизации ожогов), 45-е сутки (период эпителизации остаточных ран, начало формирования послеожоговых рубцов). Кроме этого, рассчитывали выраженность синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) по критериям R. Bone [4] и лейкоцитарный

индекс интоксикации (ЛИИ) Кальф-Калифа в указанные выше периоды.

Определение ФРЭС в сыворотке крови выполняли с помощью наборов для иммуноферментного анализа фирмы Bender MedSystems (Австрия), концентрацию МСР-1 определяли при помощи реактивов для количественного определения фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск), уровень общего эндотелина определяли с использованием реагентов фирмы Biomedica Gruppe (Австрия). Изучение концентрации ИЛ-12 проводили с использованием реактивов фирмы Biosource, Europe S.A. Концентрацию ФРЭС, МСР-1, эндотелина, ИЛ-12 проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе Stat Fax 2100. Содержание С-реактивного белка (СРБ) определяли с помощью CRP U-hs универсального/высокочувствительного теста с использованием наборов фирмы DiaSys Diagnostics Systems GmbH. Число циркулирующих эндотелиальных клеток подсчитывали по методике J. Hladovec (1977) в модификации Н.Н. Петрищева (2001) с применением фазово-контрастной микроскопии [2]. Контролем служили образцы крови 19 здоровых доноров.

Сравнение полученных результатов осуществляли путем вычисления средних значений и ошибок

среднего ($M \pm m$). Статистический анализ выполнен с использованием непараметрических методов (U-критерий Манна-Уитни) на персональном компьютере с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Максимальная выраженность ССВО отмечена у больных в период ожогового шока и на 7-е сутки с момента начала заболевания. Подобным образом распределялись и показатели ЛИИ. У больных 2-й группы эти показатели были выше пациентов 1-й группы на всех этапах исследования (табл. 2).

Концентрация ФРЭС, МСР-1, эндотелина, СРБ, ИЛ-12 в плазме крови больных на протяжении всех этапов исследования была существенно выше, чем в группе контроля (табл. 3, 4).

Таблица 2

Количество критериев ССВО и величина ЛИИ в группах больных

	1-е сутки	3-е сутки	7-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	45-е сутки
Число критериев ССВО, ед, 1-я группа	$2,0 \pm 0,25$	$1,4 \pm 0,30$	$1,9 \pm 0,26$	$1,2 \pm 0,21$	$0,8 \pm 0,26$	$0,5 \pm 0,34$
Число критериев ССВО, ед, 2-я группа	$2,8 \pm 0,31^*$ $p = 0,0001$	$2,5 \pm 0,20^*$ $p = 0,027$	$2,7 \pm 0,29$ $p = 0,074$	$2,3 \pm 0,49^*$ $p = 0,035$	$2,5 \pm 0,65^*$ $p = 0,035$	$1,3 \pm 0,67$ $p = 0,301$
ЛИИ, ед, 1-я группа	$11,5 \pm 3,92$	$7,2 \pm 2,33$	$3,5 \pm 0,82$	$3,4 \pm 0,61$	$2,8 \pm 0,93$	$1,3 \pm 0,52$
ЛИИ, ед, 2-я группа	$14,2 \pm 2,31^*$ $p = 0,0001$	$9,9 \pm 4,93$ $p = 0,391$	$9,6 \pm 2,79^*$ $p = 0,029$	$12,4 \pm 8,13$ $p = 0,181$	$7,1 \pm 2,23^*$ $p = 0,023$	$3,0 \pm 1,97$ $p = 0,305$

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим показателем 1-й группы.

Повышение уровня ФРЭС отмечено на протяжении всего исследования, при этом наибольшие значения наблюдались в период инфицирования ран (15-е сутки) и их эпителизации (30-е сутки). В 1 группе уровень ФРЭС имел менее высокие цифры, что можно связать с более выраженной интоксикацией и сопровождающей её гипоксией, которая развивалась у больных 2-й группы, а также с большей напряженностью регенераторных механизмов у этой группы больных на этапе эпителизации ожогов.

Уровень ИЛ-12, цитокина, стимулирующего пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов, имел наименьшие значения на 2-м и 3-м этапах исследования, т.е. в периоды, когда у больных отмечались наибольшая выраженность ССВО и высокие показатели ЛИИ (табл. 2). При снижении этих показателей уровень ИЛ-12 нарастал и достигал максимума на этапе эпителизации ран, при этом к моменту восстановления целостности кожных покровов его уровни продолжали оставаться значительно выше,

чем в контроле. Это можно связать с тем, что из-за существенной нагрузки на органы иммунобиологической реактивности, наблюдавшейся на 3-м и 4-м этапах исследования, у больных были наиболее активны механизмы неспецифической резистентности, представленные клетками, фагоцитирующими чужеродные частицы [3]. Это подтверждается динамикой изменения уровня МСР-1. Его уровень повышается при росте концентрации в крови провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО α). У больных с ожогами он имел повышенные значения на всех этапах исследования (табл. 3, 4), но наибольшие его уровни отмечались с третьих по 15-е сутки с момента получения травмы.

Уровень общего эндотелина оставался стабильно повышенным в обеих группах больных и незначительно менялся как на разных этапах исследования, так и при сравнении 1-й и 2-й групп.

Концентрация СРБ в крови у больных 2-й группы несколько превышала показатели 1-й группы. К моменту выписки больных

уровень этого белка острой фазы оставался значительно выше, чем в контроле.

Количество ЦЭК было достоверно выше контрольных значений в 1-й группе на

15-е сутки с момента получения травмы, во 2-й группе – с 7-х по 30-е сутки с момента получения травмы, однако достоверной разности между группами получено не было.

Таблица 3

Динамика изменений показателей ФРЭС, ИЛ-12, МСР-1, ВСРБ, общего эндотелина и ЦЭК в плазме крови больных 1-й группы

Показатель	1-е сутки	3-е сутки	7-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	45-е сутки	Контроль
ФРЭС, пг/мл	363,5 ± 129,03 $p = 0,002$	275,5 ± 71,61 $p = 0,0001$	505,4 ± 160,23 $p = 0,0001$	502,6 ± 106,02 $p = 0,0001$	389,3 ± 79,31 $p = 0,0001$	367,4 ± 102,29 $p = 0,0002$	28,6 ± 3,61
ИЛ-12, пг/мл	53,9 ± 15,83 $p = 0,0001$	32,5 ± 4,96 $p = 0,0001$	34,2 ± 8,33 $p = 0,0001$	60,7 ± 12,37 $p = 0,0001$	88,2 ± 13,59 $p = 0,0001$	132,3 ± 30,74 $p = 0,0001$	3,11 ± 0,70
МСР-1, пг/мл	290,3 ± 49,14 $p = 0,0001$	421,6 ± 56,55 $p = 0,0001$	433,0 ± 90,79 $p = 0,0002$	287,5 ± 47,23 $p = 0,0001$	337,1 ± 59,81 $p = 0,0001$	433,1 ± 47,65 $p = 0,001$	44,1 ± 8,39
ВСРБ, ммоль/л	46,1 ± 12,87 $p = 0,0001$	106,7 ± 8,79 $p = 0,0001$	112,9 ± 10,34 $p = 0,0001$	82,1 ± 12,38 $p = 0,0001$	75,5 ± 8,73 $p = 0,0001$	98,6 ± 33,29 $p = 0,001$	1,26 ± 0,29
Эндотелин, фмоль/мл	2,33 ± 0,41 $p = 0,0001$	2,27 ± 0,25 $p = 0,0001$	2,77 ± 0,44 $p = 0,001$	2,24 ± 0,35 $p = 0,0001$	2,46 ± 0,37 $p = 0,0001$	1,70 ± 0,24 $p = 0,001$	0,42 ± 0,09
ЦЭК, ·10 ⁴ /л	4,60 ± 1,03 $p = 0,14$	4,91 ± 1,36 $p = 0,44$	6,56 ± 1,91 $p = 0,15$	6,71 ± 1,37 $p = 0,014$	3,08 ± 0,64 $p = 0,76$	2,50 ± 0,65 $p = 0,809$	2,75 ± 0,54

Примечание. p – по сравнению с контрольными значениями.

Таблица 4

Динамика изменений показателей ФРЭС, ИЛ-12, МСР-1, ВСРБ, общего эндотелина и ЦЭК в плазме крови больных 2-й группы

Показатель	1-е сутки	3-е сутки	7-е сутки	15-е сутки	30-е сутки	45-е сутки	Контроль
ФРЭС, пг/мл	209,6 ± 121,30 $p = 0,01$ $p_1 = 0,210$	450,6 ± 268,02 $p = 0,006$ $p_1 = 0,637$	624,5 ± 213,66 $p = 0,001$ $p_1 = 0,288$	1071,5 ± 321,39 $p = 0,0007$ $p_1 = 0,080$	964,2 ± 394,41 $p = 0,004$ $p_1 = 0,121$	732,1 ± 213,90 $p = 0,023$ $p_1 = 0,045$	28,6 ± 3,61
ИЛ-12, пг/мл	32,8 ± 11,39 $p = 0,001$ $p_1 = 0,049$	24,2 ± 3,20 $p = 0,006$ $p_1 = 0,312$	22,5 ± 4,79 $p = 0,0003$ $p_1 = 0,238$	46,3 ± 12,06 $p = 0,0007$ $p_1 = 0,359$	79,2 ± 20,54 $p = 0,005$ $p_1 = 0,946$	46,8 ± 29,45 $p = 0,021$ $p_1 = 0,095$	3,11 ± 0,70
МСР-1, пг/мл	210,1 ± 82,97 $p = 0,08$ $p_1 = 0,53$	110,5 ± 52,60 $p = 0,09$ $p_1 = 0,026$	715,1 ± 346,48 $p = 0,023$ $p_1 = 0,906$	394,2 ± 175,25 $p = 0,004$ $p_1 = 0,827$	291,4 ± 153,54 $p = 0,09$ $p_1 = 0,736$	393,3 ± 112,06 $p = 0,034$ $p_1 = 0,504$	44,1 ± 8,39
ВСРБ, ммоль/л	60,3 ± 15,58 $p = 0,0001$ $p_1 = 0,004$	111,5 ± 15,47 $p = 0,006$ $p_1 = 0,637$	122,7 ± 7,47 $p = 0,0003$ $p_1 = 0,828$	112,5 ± 5,68 $p = 0,0007$ $p_1 = 0,176$	103,5 ± 13,76 $p = 0,006$ $p_1 = 0,157$	117,6 ± 10,45 $p = 0,014$ $p_1 = 0,738$	1,26 ± 0,29
Эндотелин, фмоль/мл	2,49 ± 0,14 $p = 0,001$ $p_1 = 0,009$	2,26 ± 0,84 $p = 0,011$ $p_1 = 0,638$	2,42 ± 0,56 $p = 0,0006$ $p_1 = 0,409$	2,76 ± 0,55 $p = 0,0009$ $p_1 = 0,238$	2,03 ± 0,30 $p = 0,006$ $p_1 = 0,946$	3,58 ± 1,56 $p = 0,017$ $p_1 = 0,182$	0,42 ± 0,09
ЦЭК, ·10 ⁴ /л	3,00 ± 1,05 $p = 0,725$ $p_1 = 0,75$	4,75 ± 1,55 $p = 0,27$ $p_1 = 0,744$	8,00 ± 1,53 $p = 0,013$ $p_1 = 0,402$	5,20 ± 0,86 $p = 0,03$ $p_1 = 0,578$	5,75 ± 1,55 $p = 0,05$ $p_1 = 0,141$	3,33 ± 0,33 $p = 0,56$ $p_1 = 0,376$	2,75 ± 0,54

Примечания:

p – по сравнению с контрольными значениями;

p_1 – по сравнению с соответствующим показателем 1-й группы.

Исходя из данных исследования, можно предположить, что эндотелий сосудов при термической травме подвергается существенному неблагоприятному воздействию. В период ожогового шока поражение эндотелия вероятнее всего связано с расстройствами системной гемодинамики.

По мере развития в ожоговых ранах воспалительного процесса в крови отмечается рост концентрации провоспалительных цитокинов [7]. Повышение в крови уровня медиаторов воспаления неблагоприятно воздействует на эндотелиоциты как непосред-

ственно, так и опосредованно путем активации клеток моноцитарно-макрофагальной системы и выработки ими активных форм кислорода [5]. В настоящем исследовании на высокую степень патогенных воздействий на эндотелий указывал максимальный подъем уровней факторов его поражения (МСР-1, эндотелина, ЦЭК) на 3-м и 4-м этапах исследования, отмеченный в большей степени у пациентов 2-й группы. Клинически в эти сроки у больных отмечено максимальное количество случаев развития синдрома полиорганной недостаточности.

На существенное повреждение эндотелия указывали высокие уровни ФРЭС, протеина, который ассоциирован с гипоксическим состоянием и тяжелой интоксикацией [8, 9]. Преобладание его концентрации у пациентов 2-й группы на 4-м, 5-м и 6-м этапах исследования свидетельствовало о прямой зависимости между тяжестью ожогов и степенью повреждения эндотелия.

На последнем этапе исследования (45 сутки с момента получения травмы) большинство показателей не только не достигало контрольных значений, но и в несколько раз превосходило их. Это говорит о том, что нарушение функций эндотелия продолжается и после стихания острого периода термической травмы и восстановления целостности кожного покрова. Данное наблюдение может быть использовано в дальнейших исследованиях по отдаленным последствиям термических поражений и возможным способам их коррекции.

Выводы

1. При термической травме отмечается выраженное патогенное воздействие на эндотелий, которое находится в прямой зависимости от тяжести полученных ожогов.

2. Нарушение функции эндотелия продолжает наблюдаться у больных после восстановления кожных покровов.

3. Изученные факторы (ФРЭС, МСР-1, ЦЭК, эндотелин) являются важными ранними показателями, характеризующими нарушение функции эндотелия, и могут быть использованы как прогностические критерии для выделения групп риска развития синдрома полиорганной недостаточности при термической травме.

Список литературы

1. Синдром полиорганной недостаточности у обожженных: проблемы диагностики, профилактики и лечения / А.С. Ермолов, С.В. Смирнов, Л.И. Герасимова, Т.Г. Спиридонова [и др.] // Комбустиология. – 1999. – №1 (электронный ресурс www.burn.ru).
2. Петрищев Н.Н., Беркович О.А. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиоцитов в крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 1. – С. 50–52.
3. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2008. – С.78–88.
4. Definition for sepsis and failure and guidelines for innovative therapies in sepsis. ACCP/SCCM consensus conference / R.C. Bone, R.A. Balc, F.B. Cerra [et al.] // Cest. – 1992. – Vol. 101, № 6. – P. 1644–1655.
5. Oxidative stress and endothelial dysfunction during sepsis / O. Huet, L. Dupic, A. Harrois, J. Duranteau // Front Biosci. – 2011. – № 16. – P. 1986–95.
6. Jersmann H.P.A., Hii C.S.T., Ferrante J.V., Ferrante A. Bacterial Lipopolysaccharide and Tumor Necrosis Factor Alpha synergistically increase expression of human endothelial adhesion molecules through activation of NK κB and p38 mitogen_activated protein kinase signaling pathways // Infection and Immunity. – 2001. – Vol. 69, № 3. – P. 1273–1279.
7. Concentrations of cytokines IL-6 and IL-10 in plasma of burn patients: their relationship to sepsis and outcome / D. Pileri, A. Accardo Palombo, L. D'Amelio [et. al.] // Annals of Burns and Fire Disaster. – 2008. – Vol. 21, № 4. – P. 182–185.
8. Plasma Vascular Endothelial Growth Factor in Severe Sepsis / M. Van der Flier, H. Van Leeuwen, K. Van Kessel [et al.] // Shock. – 2005. – Vol. 23, Issue 1. – P. 35–38.
9. Vascular endothelial growth factor is an important determinant of sepsis morbidity and mortality / K. Yano, P. Liaw, J. Mullington [et al.] // J Exp Med. – 2006. – Vol. 203, № 6. – P. 1447–1458.

Рецензенты:

Долишний В.Н., д.м.н., профессор, зам. директора по лечебной работе ЗАО «Клиника доктора Парамонова», г. Саратов;

Бородулин В.Б., д.м.н., профессор, зав. кафедрой биохимии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. Разумовского», г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 03.08.2011.