

УДК: 616-092

Любин А.В., Шаповалов К.Г.

МАРКЕРЫ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ЭЛЕКТРОТРАВМЕ

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита

Резюме. Обследовано 20 пациентов с электротравмой легкой степени тяжести, проходивших лечение в городской клинической больнице №1 г. Читы. У пораженных исследованы некоторые показатели функции эндотелия. Установлено, что при электротравме повышалось количество десквамированных эндотелиоцитов, снижалась продукция нитритов крови. Таким образом, воздействие электрического тока вызывало дисфункцию эндотелия.

Ключевые слова. Электротравма, оксид азота, десквамированные эндотелиоциты, эндотелиальная дисфункция.

Lyubin A. V., Shapovalov K. G.

MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN ELECTRIC SHOCK

Summary. 20 patients under investigation, suffering from electrotrauma in a light form, underwent medical treatment in Chita City Clinical Hospital №1. Some indicators of endothelium function were investigated at patients. It is established that at electrotrauma the quantity of desquamated endotheliocytes increased, the production of blood nitrite decreased. Thus, the influence of electric current caused endothelium dysfunction.

Keywords. Electrotrauma, nitric oxide, moving endothelium cells, endothelium dysfunction.

Введение. Физические свойства электрической энергии подразумевают прохождение тока через тело человека по тканям, оказывающим наименьшее сопротивление. Таким образом, электрический ток, преодолев сопротивление кожи и подкожной жировой клетчатки, проходит через более глубоко лежащие ткани параллельными пучками вдоль потоков тканевой жидкости, кровеносных и лимфатических сосудов, оболочек нервных стволов [7, 9, 11]. Это обуславливает высокую степень уязвимости кровеносных сосудов при электрической травме [8, 11].

Эндотелий участвует в регуляции тонуса и атромбогенности стенки сосуда, систем свертывания крови и фибринолиза, ангиогенеза, иммунитета [5, 6, 10]. Поэтому его функциональные изменения могут объяснять патофизиологические изменения в тканях при электротравме. Вместе с тем состояние эндотелиальной секреции вазоактивных веществ и их вклад в активность межклеточных взаимодействий при поражениях электрическим током изучены недостаточно.

Таким образом, определение метаболитов азота и десквамированных эндотелиальных клеток позволит глубже раскрыть особенности патогенеза электротравмы.

Цель исследования. Оценить функцию эндотелия поврежденного электрическим током участка сосудистого русла по числу десквамированных эндотелиоцитов и нитроксид-продуцирующей активности эндотелия.

Материалы и методы. Обследовано 20 больных с поражением электрическим током в первые сутки после полученной травмы. В работе с людьми соблюдались этические принципы, предъявляемые статьей 24 Конституции РФ и Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2011, ред.). Пациенты находились на стационарном лечении в ожоговом отделении городской клинической больницы №1 г. Читы.

В исследования были включены пострадавшие мужчины от 20 до 40 лет. Средний возраст составил 33±6 лет. Из исследования исключались пациенты с тяжелой соматической патологией: сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей, туберкулез, хронический алкоголизм, а также пострадавшие, электротравма у которых осложнилась пневмонией, лимфаде-

нитом и сепсисом. У больных имелись метки тока в области верхних конечностей, при этом общая площадь ожогового поражения не превышала 5%.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу.

Исследование содержания в крови десквамированных клеток эндотелия определялось методом Hladovec (1978). Метод основан на изоляции клеток вместе с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью АДФ. С этой целью использовали свежую цитратную кровь. Для получения богатой тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали 10 мин при 1000 оборотов в минуту. Затем 1 мл плазмы смешивали с 0,2 мл натриевой соли АДФ в концентрации 1 мг/мл. Полученную смесь перемешивали в течение 10 мин, аккуратно встряхивая пробирки. Свободный от тромбоцитов супернатант переносили в другую емкость и центрифугировали в прежнем режиме для удаления агрегатов тромбоцитов. Поверхностный слой переносили в другую пробирку и центрифугировали при 3000 оборотах в минуту в течение 15 минут для осаждения эндотелиальных клеток, затем надосадочную плазму аккуратно удаляли, а полученный осадок суспензировали 0,1 мл 0,9% раствора NaCl и перемешивали стеклянной палочкой. Готовой суспензией заполняли камеру Горяева и подсчитывали в двух сетках методом контрастной микроскопии.

Определение нитритов крови осуществлялось непрямым методом (Голиков П.П. и соавт., 2004). Пробы сыворотки крови непосредственно перед исследованием размораживали и депротеинизировали добавлением к 0,4 мл сыворотки 0,8 мл 0,5N NaOH и 0,8 мл 10% раствора сульфата цинка. Содержимое пробирки перемешивали и центрифугировали 15 мин при 9000 g. Надосадочную жидкость смешивали с равным объемом реактива Грисса (1% сульфаниламид, 0,1% нафтилендиамин, 2,5% фосфорная кислота) и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Измерение абсорбции раствора проводили на спектрофотометре при длине волны 546 нм. Концентрацию нитрита определяли с помощью стандарта нитрита натрия.

Полученные данные обработаны с помощью пакета программ Biostat и Microsoft Excel 2003. При сравнении показателей исследуемых групп использовались методы непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни), в связи с ненормальным распределением значений в вариационных рядах. Числовые данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала с указанием точного значения статистической значимости (p). При сравнении двух независимых выборочных совокупностей по одному признаку использовался критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ выполнен с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования.

Установлено, что действие электричества сопровождалось повреждением клеток эндотелия, возрастанием их количества в циркулирующей крови. Так, у пострадавших с электротравмой число десквамированных эндотелиоцитов (ДЭЦ) в кровотоке увеличивалось в 2,5 раза ($p < 0,001$), в сравнении с группой относительно здоровых (табл. 1)

Таблица 1

Содержание десквамированных клеток эндотелия в крови пострадавших с электротравмой Me (25-й процентиль; 75-й процентиль)

Показатели	Контроль (n = 20)	Больные с электротравмой (n = 20)
ДЭЦ, $\times 10^4$ /л	2,85 (2,34; 3,24)	7,31 (6,53; 8,75) $p < 0,001$

p – статистическая значимость различий с контролем.

Возрастание количества клеток эндотелия в крови являлось прямым следствием повреждения электричеством стенки сосудов. При этом воздействие электрического тока на эндотелий могло приводить как к клеточному некрозу, так и к фазовым переходам фосфолипидов кле-

точных мембран из жидкокристаллического состояния в кристаллическое. По всей видимости, пусковым механизмом в формировании нарушений систем микроциркуляторного гемостаза, развития воспалительной реакции при электротравме, является альтерация клеток эндотелия сосудов. Повреждение электричеством признается особым видом травмы, при котором первично морфофункциональные изменения состояния эндотелия сосудов превалируют над альтерацией прочих тканей [11].

Установлено, что у пораженных электрическим током в венозной крови наблюдается снижение в 1,8 раза содержания нитритов, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$; табл. 2).

Таблица 2

**Концентрация нитритов в крови у пострадавших с электротравмой
Me (25-й процентиль; 75-й процентиль)**

Показатели	Контроль n = 20	Больные с электротравмой n = 20
Нитриты, мкмоль/л	4,17 (4,01; 4,24)	2,27 (2,02; 2,30) $p < 0,001$

p – статистическая значимость различий с контролем.

Снижение содержания оксида азота (NO) может быть связано с нарушением экспрессии или транскрипции фермента NO-синтазы (NOS), уменьшение доступности L-аргинина (субстрата для NOS) или ускоренным разрушением NO, например, при повышенном образовании свободных радикалов [4, 10]. Учитывая, что в регуляции практически всех функций эндотелия принимает участие NO, чувствительность к повреждению электричеством данного фактора оказалась высокой [2]. Снижение синтеза NO является одним из главных патогенетических звеньев дисфункции эндотелия (ДЭ). Поэтому, многие исследователи оценивают именно этот показатель в качестве основного маркера ДЭ [1, 3, 4, 6, 10].

Патогенетические взаимосвязи исследованных показателей подтверждаются установлением обратной средней силы корреляционной связи числа ДЭЦ и уровня нитритов ($r = -0,34$, $p < 0,05$). Таким образом, не вызывает сомнений деструктивное действие переменного электрического тока на эндотелиальный слой сосудистой стенки при отсутствии массивного разрушения тканей. Учитывая высокую гормональную и регуляторную активность эндотелиоцитов, их альтерация и дисфункция занимает существенное место в патогенезе электротравмы.

Выводы:

1. У больных с электротравмой в 2,5 раза увеличивалось содержание десквамированных эндотелиоцитов в циркулирующей крови.
2. У пациентов с электроальтерацией происходило снижение концентрации нитритов крови в 1,8 раза.
3. Между концентрацией нитритов крови и возрастанием уровня десквамированных эндотелиоцитов установлена отрицательная средней силы корреляционная связь.

Литература:

1. Богомолова И.К. Оксид азота и его метаболиты как маркеры дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом [Электронный ресурс] / И.К. Богомолова, В.А. Михно // Забайкальский медицинский вестник. – 2011. – № 1. – С. 140-146. – Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (6 ноября 2014)
2. Гишинский М.А. Эндогенная регуляция биодоступности оксида азота. Клинические корреляты и подходы к анализу / М.А. Гишинский, Е.Ю. Брусенцев // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – № 3. – С. 109-115.
3. Голиков П.П. Метод определения нитрита / нитрата (NO_x) в сыворотке крови / П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева // Вопросы биомедицинской химии. – 2004. – № 1. – С. 79–85.

4. Ивашкин В.Т. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока / В.Т. Ивашкин, О.М. Драпкина. – 2-е изд. – М. : ГЭОТАР - МЕДИА, 2011. – 376 с.
5. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник. – Чита, 2010. – 554 с.
6. Петрищев Н.Н. Физиология и патофизиология эндотелия / Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. – СПб., 2003. – С. 4-38.
7. Руководство по судебной медицине / В.В. Томилин [и др.]. – М. : Медицина, 2001. – С. 117-122.
8. Спинальная амиотрофия вследствие электротравмы / И.В. Дамулин [и др.] // Неврологический журнал. – 2006. – № 1. – С. 36-40.
9. Черешнев В.А. Патофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков. – М. : Вече, 2001. – 693 с.
10. Шаповалов К.Г. Оптимизация компонентов регуляции сосудистого тонуса и состояния микроциркуляторного гемостаза на фоне продленной регионарной блокады при местной холодовой травме. / К.Г. Шаповалов, Е.Н. Бурдинский, А.В. Степанов // Анестезиология и реаниматология. – 2008. – № 3. – С. 20-21.
11. Koumbourlis A.C. Electrical injuries / A.C. Koumbourlis // **Crit. Care Med.** – 2002. – Vol. 30, Suppl 11. – P. 424-30.