

УДК 615.099.092:546.815

КАРЛОВА Е.А.<sup>1</sup>, ШЕЙМАН Б.С.<sup>2</sup><sup>1</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев<sup>2</sup>Национальная детская специализированная больница «ОХМАТДЕТ» МЗ Украины, г. Киев

## ЭНДОТОКСИКОЗ И ТОКСИНИНДУЦИРОВАННЫЕ ЦИТОЛИТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С МИКРОСАТУРНИЗМОМ

**Резюме.** В работе представлены особенности формирования эндотоксикоза при микросатурнизме. Приведены результаты ретроспективного исследования токсининдуцированных цитолитических реакций и их роли в формировании токсемии в зависимости от степени экспозиции свинца. Исследованы механизмы продукции токсинов и потенциалы повреждающей активности, размеры молекул токсинов и параметры их распределения и накопления в кровяном русле, прочность связи с токсиннесущими фракциями в зависимости от степени микросатурнизма.

**Ключевые слова:** микросатурнизм, токсининдуцированные цитолитические реакции, эндотоксикоз, особенности развития.

### Введение

К числу глобальных загрязнителей внешней среды относятся тяжелые металлы, в структуре которых главенствующее место отведено свинцу.

В литературных источниках последних лет широко представлена информация о политропности токсического действия свинца на организм человека с вовлечением в патологический круг системы крови, сердечно-сосудистой, нервной и костной систем, желудочно-кишечного тракта.

Многочисленными исследованиями доказано, что одним из звеньев воздействия тяжелых металлов является их токсическое действие, сопровождающееся структурно-функциональным изменением клеточного аппарата, и прежде всего нарушением структуры и функции мембран. Данный эффект обусловлен блокированием функционально активных групп белковых ферментов и структурных белков [2, 4–6].

При этом основные проявления системно-органной токсичности свинца многие исследователи связывают с изменениями эритропоэтической активности плазмы, что, в свою очередь, непосредственно связано с воздействием тяжелого металла на морфофункциональное состояние эритробластов и эритроцитов с нарушением происходящих в них биохимических процессов [2, 4–6].

В основе токсического действия тяжелых металлов на организм лежит разобщение взаимосвязанных механизмов, ведущая роль среди кото-

рых отведена образованию свободных радикалов как результату активации процессов перекисного окисления липидов с развитием оксидативного стресса. Дисбаланс в гомеостатических биохимических системах сопровождается формированием конкурентного взаимодействия с эссенциальными микроэлементами и возникновением внутриклеточного дисбаланса последних. Вследствие этих процессов при избыточном поступлении металлов в организм происходит нарушение ряда гомеостатических функций с развитием эндотоксемии.

Несмотря на всестороннее изучение эндотоксикоза, до настоящего момента не изучены механизмы его формирования и течения при воздействии фактора малой интенсивности — экспозиции малых доз свинца, а также не установлены особенности его лабораторных проявлений при микросатурнизме.

Изложенное выше указывает на актуальность дальнейшего изучения проблемы проявлений эндотоксемии в условиях экспозиции малых доз свинца, что, несомненно, должно привести к усовершенствованию ранней диагностики токсических эффектов, стратифицировать прогноз степени риска, а также оптимизировать подходы к лечебно-профилактическим мероприятиям у пациентов при микросатурнизме.

© Карлова Е.А., Шейман Б.С., 2014

© «Медицина неотложных состояний», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

**Цель работы:** исследовать механизмы формирования и реализации эндотоксикоза при микросатурнизме.

## Материалы и методы

Под наблюдением находилось 203 пациента, которые проходили обследование на базе ДПС МСЧ № 18 МЗ Украины в г. Киеве. В зависимости от уровня свинца крови все пациенты были разделены на три группы. В первую группу вошли пациенты с уровнем свинца крови  $2,120 \pm 0,013$  мкмоль/л; во 2-ю группу —  $1,920 \pm 0,013$  мкмоль/л; в 3-ю группу — с минимальным уровнем свинца  $1,720 \pm 0,028$  мкмоль/л. Возраст больных колебался в пределах от 35 до 47 лет. Средний возраст пациентов 1-й группы (51 человек) составил  $43,5 \pm 1,3$  года; 2-й (46 человек) —  $39,9 \pm 1,8$  года, 3-й (49 человек) —  $40,3 \pm 1,4$  года. В контрольную группу вошли 57 практически здоровых лиц, средний возраст которых составил  $44,7 \pm 1,5$  года. Все обследованные пациенты были мужского пола.

Исследование крови с определением общих характеристик токсемии (размеры молекул и частиц эндотоксинов, потенциал токсининдуцированной цитолитической активности (ТИЦА), приоритетные места преимущественного накопления эндотоксинов на токсиннесущих фрак-

циях крови) проводили с использованием комплексной токсикометрии [13, 14].

Полученные данные токсикометрических исследований систематизированы и анализированы при помощи методов математической статистики с использованием программы Statistica 6, StatSoft фирмы StatSoft Inc., USA.

Для определения роли и значения ТИЦА в развитии и реализации токсемии, верификации основного звена эндотоксемии, обладающего наиболее выраженным повреждающим потенциалом, в ходе исследования были выделены следующие этапы работы [4]:

- механизм повреждения биологической мишени токсинами, преимущественно накопленными в кровяном русле;
- ТИЦА цельной плазмы и токсиннесущих фракций, ассоциированных с токсинами;
- ТИЦА токсинов, накопленных на токсиннесущих фракциях плазмы крови.

## Результаты и обсуждение

Результаты ретроспективного анализа ТИЦА цельной плазмы и токсиннесущих фракций плазмы крови у пациентов с микросатурнизмом показаны в табл. 1.

При исследовании параметров токсемии было обнаружено, что независимо от степени экспо-

**Таблица 1. Параметры токсемии, обусловленной ТИЦА, при микросатурнизме ( $M \pm m$ )**

| Параметры токсемии   | Группы больных   |                  |                  |
|--|------------------|------------------|------------------|
|  | I (n = 51)       | II (n = 46)      | III (n = 49)     |
| <i>Уровень ТИЦА (%) токсиннесущих фракций плазмы крови, ассоциированных с эндотоксинами</i>  |                  |                  |                  |
| Токсичность плазмы крови (в целом)   | $42,55 \pm 1,24$ | $42,67 \pm 0,54$ | $40,84 \pm 0,73$ |
| Токсичность глобулиновой фракции   | $46,04 \pm 0,85$ | $42,37 \pm 0,54$ | $45,26 \pm 0,47$ |
| Токсичность альбуминовой фракции   | $43,28 \pm 1,36$ | $45,23 \pm 0,61$ | $41,43 \pm 0,69$ |
| Токсичность свободноциркулирующей фракции  | $37,19 \pm 1,61$ | $43,10 \pm 0,42$ | $18,42 \pm 0,37$ |
| Основное место накопления токсинов в кровяном русле  | Глобулины        | Альбумины        | Глобулины        |
| <i>Уровень ТИЦА (%) эндотоксинов с молекулами и частицами различных размеров</i>   |                  |                  |                  |
| Токсины (10–200 нм) на глобулинах  | $40,81 \pm 0,74$ | $19,04 \pm 1,57$ | $14,43 \pm 0,62$ |
| Токсины (10–200 нм) на альбуминах  | $43,25 \pm 1,36$ | $45,11 \pm 0,59$ | $45,27 \pm 0,59$ |
| Токсины (10–200 нм) свободноциркулирующие  | $37,7 \pm 1,6$   | $43,10 \pm 0,42$ | $18,42 \pm 0,37$ |
| Токсины (< 10 нм) на глобулинах  | $32,97 \pm 1,43$ | $9,13 \pm 0,10$  | $9,13 \pm 0,11$  |
| Токсины (< 10 нм) на альбуминах  | $38,06 \pm 0,76$ | $14,64 \pm 1,10$ | $10,61 \pm 0,48$ |
| Токсины (< 10 нм) свободноциркулирующие  | $48,05 \pm 1,41$ | $22,99 \pm 1,10$ | $23,06 \pm 1,14$ |
| Токсины (> 200 нм) на клеточных мембранах  | $38,71 \pm 3,48$ | $23,84 \pm 4,08$ | $40,84 \pm 0,73$ |
| Токсины (> 200 нм) на глобулинах   | $3,11 \pm 2,12$  | $40,93 \pm 1,49$ | $45,26 \pm 0,47$ |
| Токсины (> 200 нм) на альбуминах   | $0,37 \pm 0,02$  | $0,22 \pm 0,00$  | $0,16 \pm 0,00$  |
| Размеры молекул токсинов, обладающих наиболее высокой ТИЦА   | 10–200 нм        | > 200 нм         | > 200 нм         |
| <i>Прочность связи токсиннесущих белковых фракций с эндотоксинами, обладающими наибольшим уровнем повреждающей активности (ТИЦА)</i> |                  |                  |                  |
| Токсины, обладающие наиболее выраженным потенциалом повреждающей активности  | Непрочная        | Прочная          | Прочная          |

**Примечание:** отличия между группами являются достоверными ( $p < 0,05$ ).

зиции свинца у пациентов всех обследованных групп наиболее высокий уровень ТИЦА плазмы наблюдался в 1-й —  $42,55 \pm 1,24$  % и 2-й группе —  $42,67 \pm 0,54$  %. В 3-й группе пациентов данный показатель составил  $40,84 \pm 0,73$  %. Различия между показателями ТИЦА во 2-й и 3-й группах пациентов были достоверными ( $p > 0,05$ ; табл. 1).

Установлено, что наибольшие уровни ТИЦА демонстрировали у пациентов 1-й группы белковые (глобулиновая и альбуминовая) токсиннесущие фракции эндотоксинов (место преимущественного накопления эндотоксинов в кровяном русле) ( $43,28 \pm 1,36$  %,  $46,04 \pm 0,85$  %;  $p > 0,05$ ). У пациентов 2-й группы наиболее выраженный потенциал ТИЦА демонстрировала альбуминовая токсиннесущая фракция плазмы ( $45,23 \pm 0,61$  %;  $p < 0,05$ ); у пациентов 3-й группы — глобулиновая токсиннесущая фракция ( $45,26 \pm 0,47$  %;  $p < 0,05$ ).

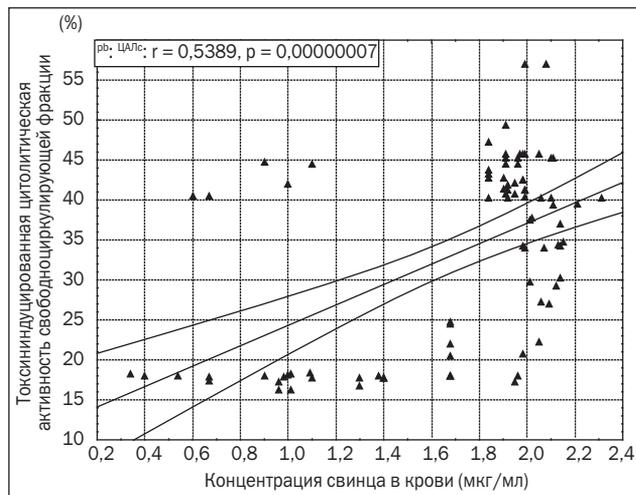
На основании полученных результатов и определения параметров токсикокинетики эндотоксинов, обладающих наиболее выраженной ТИЦА у пациентов с микросатурнизмом, можно сделать вывод о характеристиках основного звена эндотоксемии:

- у пациентов 1-й группы: альбумин- и глобулинассоциированные эндотоксины с размером частиц 10–200 нм;

- у пациентов 2-й группы: альбуминассоциированные эндотоксины с размером частиц  $> 200$  нм;

- у пациентов 3-й группы: глобулинассоциированные эндотоксины с размером частиц  $> 200$  нм.

Исходя из проведенного анализа, можно указать на основной механизм синтеза эндотоксинов, имеющих наиболее высокий потенциал ТИЦА: у пациентов 1-й группы — инфекционный, у пациентов 2-й и 3-й группы — резорбтивный.

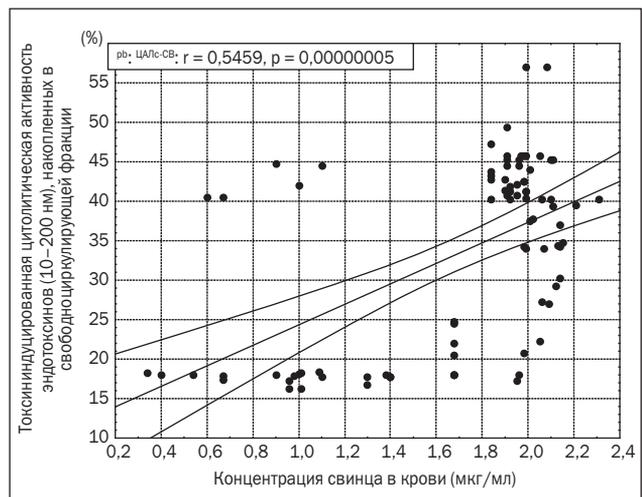


**Рисунок 1. Корреляционные зависимости между уровнем свинца и ТИЦА свободноциркулирующей фракции эндотоксинов у пациентов с микросатурнизмом ( $p < 0,05$ )**

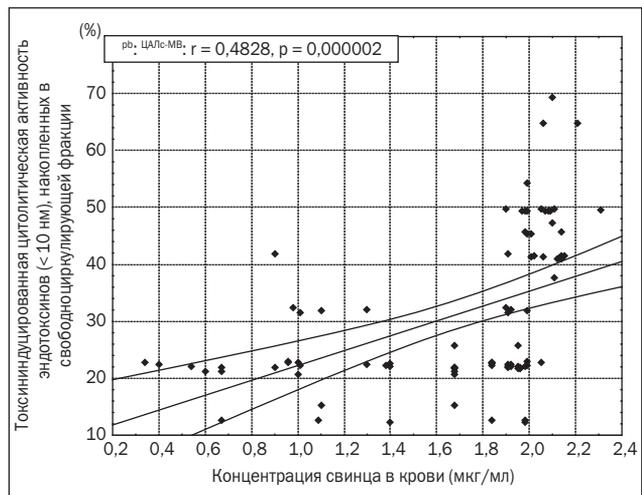
**Параметры ТИЦА и корреляционные зависимости с содержанием свинца в крови.** Для уточнения параметров основного звена эндотоксемии, сопровождающей накопление свинца в крови, проведены исследования корреляционной зависимости между концентрацией свинца в кровяном русле и ТИЦА токсиннесущих фракций и токсинов, накопленных в кровяном русле (рис. 1).

Установлено, что с концентрацией свинца в плазме крови достоверно позитивно коррелирует уровень ТИЦА свободноциркулирующей фракции эндотоксинов ( $r = +0,54$ ;  $p < 0,05$ ).

Для уточнения характеристик и участия эндотоксинов в формировании ТИЦА свободноциркулирующей фракции плазмы крови проведены исследования корреляционной зависимости между концентрацией свинца в кровяном русле и ТИЦА различных свободноциркулирующих эндотоксинов (рис. 2, 3).



**Рисунок 2. Корреляционные зависимости между уровнем свинца и ТИЦА свободноциркулирующих эндотоксинов с размером частиц 10–200 нм ( $p < 0,05$ )**



**Рисунок 3. Корреляционные зависимости между уровнем свинца и ТИЦА свободноциркулирующих эндотоксинов с размером частиц  $< 10$  нм ( $p < 0,05$ )**

Установлено наличие достоверной ( $p < 0,05$ ) позитивной корреляционной зависимости при микросатурнизме между следующими параметрами:

— концентрацией свинца в крови и ТИЦА свободноциркулирующей фракции эндотоксинов ( $r = +0,54$ ;  $p < 0,05$ ; рис. 1);

— концентрацией свинца в крови и ТИЦА свободноциркулирующих эндотоксинов с размером частиц 10–200 нм ( $r = +0,55$ ;  $p < 0,05$ ; рис. 2);

— концентрацией свинца в крови и ТИЦА свободноциркулирующих эндотоксинов с размером частиц  $< 10$  нм ( $r = +0,48$ ;  $p < 0,05$ ; рис. 3).

Наличие хронической интоксикации свинцом подразумевает под собой цепь взаимосвязанных процессов. Влияние же малых доз ксенобиотика с формированием микросатурнизма предопределяет формирование отдельных звеньев этой цепи, одной из которых является эндотоксемия. В свою очередь, токсикоз усугубляет течение заболевания, повышает риск возникновения неблагоприятного исхода и указывает на высокую значимость профилактических и лечебных мероприятий.

Токсикометрические и биохимические исследования у рабочих свинцово-опасных производств были разделены в зависимости от степени экспозиции на три группы: 1-я группа — пациенты с высоким уровнем свинца крови ( $2,120 \pm 0,013$  мкмоль/л); 2-я группа — средним уровнем ( $1,920 \pm 0,013$  мкмоль/л); 3-я группа — с минимальным уровнем свинца ( $1,720 \pm 0,028$  мкмоль/л). Для определения особенностей формирования и развития токсикоза в зависимости от степени экспозиции свинца проведено изучение полученных результатов, их сравнение, а также исследована корреляционная зависимость между показателями.

Установлено, что у пациентов 1-й группы наибольшей ТИЦА обладали глобулин- и альбуминассоциированные эндотоксины с частицами размером 10–200 нм. У пациентов 2-й группы наибольшей ТИЦА обладали альбуминассоциированные эндотоксины с размером частиц  $> 200$  нм. У пациентов 3-й группы наибольшей ТИЦА обладали глобулинассоциированные эндотоксины с размером частиц  $> 200$  нм.

При проведении исследований корреляционной зависимости между показателями ТИЦА и концентрацией свинца в крови установлено, что достоверные дозозависимые эффекты наблюдались между концентрацией ксенобиотика и ТИЦА свободноциркулирующей фракции эндотоксинов ( $r = +0,54$ ;  $p < 0,05$ ). При этом концентрация свинца достоверно позитивно коррелировала с уровнем ТИЦА свободноциркулирующих эндотоксинов с размером частиц 10–200 нм ( $r = +0,55$ ;  $p < 0,05$ ) и размером молекул  $< 10$  нм.

## Выводы

1. Комплексные токсикометрические исследования накопленных в кровяном русле цитолитических веществ (токсинов) позволяют выделить

основные звенья развивающейся токсемии у пациентов с микросатурнизмом и систематизировать их по размерам молекул (частиц), величине ТИЦА, распределению токсинов на токсиннесущих фракциях в кровяном русле.

2. Распределение и преимущественное накопление токсинов в кровяном русле зависит от степени экспозиции свинца.

3. Размеры молекул (частиц) токсинов и место их преимущественного накопления в кровяном русле у пациентов с микросатурнизмом зависят от концентрации свинца в кровяном русле.

Работы по изучению параметров эндотоксикоза у пациентов с микросатурнизмом продолжаются.

## Список литературы

1. Арчаков А.И. Геномика, протеомика и биоинформатика — науки XXI столетия // *Фармакологический вестник*. — 2001. — № 9. — С. 30–37.
2. Анализ ядрышкового аппарата клеток костного мозга при свинцовой интоксикации / И.А. Пашкевич, Ю.А. Успенская, В.В. Нефедова, А.Б. Егорова // *Гигиена и санитария*. — 2002. — № 4. — С. 58–59.
3. Волошина Н.О. Клінічне значення плазмаферезу у лікуванні гострої ниркової недостатності у дітей: Автореф. дис... канд. мед. наук. — К., 1996. — 146 с.
4. Гутникова А.Р., Махмудов К.О., Саидханов Б.А. и др. О мембранотропном действии солей тяжелых металлов и основных путей его коррекции // *Токсикол. вестник*. — 2002. — № 3 (май-июнь). — С. 21–26.
5. Данилів С.І. Ефекти підвищення концентрації іонів свинцю на кровотвірні органи сур'яну саргіо L / С.І. Данилів, М.А. Мазена // *Імунологія та алергологія*. — 2009. — № 2/3. — С. 14–18.
6. Дмитруха Н.М. Експериментальне дослідження впливу важких металів (свинцю та кадмію) на неспецифічну резистентність організму білих щурів / Н.М. Дмитруха // *Современные проблемы токсикологии*. — 2004. — № 4. — С. 27–31.
7. Зверев Д.В., Долецкий А.С., Музуров А.Л. Активные методы детоксикации у детей раннего возраста // *Анестезиология и реаниматология*. — 1996. — № 6. — С. 48–51.
8. Зависимость между содержанием металлов и интенсивностью окислительного стресса в организме / Красилов С.И., Тиньков А.Н., Тиньков А.А. и др. // *Гигиена и санитария*. — 2010. — № 6. — С. 44–47.
9. Использование биологически активных веществ в профилактике токсического действия некоторых тяжелых металлов / Дегтярева Т.Д., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И. и др. // *Гигиена и санитария*. — 2001. — № 5. — С. 71–73.
10. Калыкинская Е. Протеомика против геномики, или Сломанный ключ к наследственным болезням // *Компьютерра*. — 2001. — № 35. — С. 43–51.
11. Мельник Ю.П. Процес вільнорадикального перекисного окислення ліпідів та активність антиоксидантної системи при впливі свинцю (експериментальні та виробничі дослідження): Автореф. дис... канд. біол. наук: 14.02.01 / Ю.П. Мельник; Ін-т медицини праці АМН України. — К., 2004. — 21 с.
12. Проданчук Н.Г., Шейман Б.С., Осадчая О.И., Волошина Н.А. Спосіб діагностики та лікування ендотоксикозу (заявка на винахід № 2004010546 від 26.01.2004 р.).
13. Проданчук Н.Г., Шейман Б.С., Осадчая О.И., Волошина Н.А. Спосіб діагностики етіологічного чинника токсемії (заявка на винахід № 20040503768 від 19.05.2004 р.).
14. Першин О.І. Вплив іонів свинцю на пероксидну окисдацію ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах щурів / О.І. Першин, Г.Л. Антопяк // *Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія*. — 2005. — № 3. — С. 19–24.

15. Трахтенберг І.М. Дослідження впливу свинцю і кадмію на імуноглобулін G людини за даними MALDI-ToF мас-спектрометрії / І.М. Трахтенберг, Т.Ю. Громовий, В.О. Покровський та ін. // *Соврем. пробл. токсикологии*. — К., 2009. — № 1. — С. 37-40 (Шифр в БД СУ5/2009/1).

16. Трахтенберг І.М. Приоритетные аспекты профилактической токсикологии: опыт прошлого, реалии настоящего, горизонты будущего / І.М. Трахтенберг // *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. — 2010. — № 3. — С. 72-84.

17. Шейман Б.С., Осадчая О.И., Козинец К.Г. Дифференциально-диагностические признаки определения схемы детоксикационной терапии у больных с различной патологией // *Лабораторная диагностика*. — 1999. — № 4. — С. 11-13.

18. Шейман Б.С. Протеомика и эндотоксикоз — гармония в дисгармонии / Б.С. Шейман // *Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии: V Междунар. конф.: тезисы докл.* — М., 2006. — С. 108-109.

Получено 17.01.14 ■

Карлова О.А.<sup>1</sup>, Шейман Б.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

<sup>2</sup>Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ» МОЗ України, м. Київ

### ЕНДОТОКСИКОЗ І ТОКСИНІНДУКОВАНІ ЦИТОЛІТИЧНІ РЕАКЦІЇ В ПАЦІЄНТІВ ІЗ МІКРОСАТУРНІЗМОМ

**Резюме.** У роботі представлені особливості формування ендотоксикозу при мікросатурнізмі. Наведено результати ретроспективного дослідження токсиніндукованих цитолітичних реакцій і їхньої ролі у формуванні токсемії залежно від ступеня експозиції свинця. Досліджено механізми продукції токсинів і потенціали пошкоджуючої активності, розміри молекул токсинів і параметри їхнього розподілу й накопичування в кров'яному руслі, міцність зв'язку з токсиннесучими фракціями залежно від ступеня мікросатурнізму.

**Ключові слова:** мікросатурнізм, токсиніндуковані цитолітичні реакції, ендотоксикоз, особливості розвитку.

Karlova Ye.A.<sup>1</sup>, Sheyman B.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Medical University named after A.A. Bogomolets, Kyiv

<sup>2</sup>National Children's Specialized Hospital «Mother and Child Healthcare» of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, Ukraine

### ENDOTOXEMIA AND TOXIN-INDUCED CYTOLYTIC RESPONSE IN PATIENTS WITH MICROSATURNISM

**Summary.** The paper presents the features of formation of endotoxemia in microsaturism. Results of retrospective study of toxin-induced cytolytic reactions and their role in toxemia according to the degree of exposure of lead are provided. The mechanisms of toxin production and damaging activity potentials, toxin molecular size and parameters of their distribution and accumulation in the bloodstream, the bond strength with toxin-containing factions depending on the degree microsaturism were investigated.

**Key words:** microsaturism, toxin-induced cytolytic response, endotoxemia, features of development.