

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ ТИОЛДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТОЛБНЯКЕ, СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

*М.А.Каштальян, М.М.Каштальян, В.В.Костюшов,
Л.А.Костюшова, О.С.Герасименко, И.И.Бокал*

**Военно-медицинский клинический центр Южного региона
Одесса, Украина**

Введение

Столбняк достаточно широко распространен во многих странах мира, является нерешенной проблемой современного здравоохранения, биологии и медицины. Неослабевающее внимание к нему объясняется многими причинами, среди которых главная — очень высокая летальность, которая составляет 22-25% в мирное время и достигает 90% в военное время [1, 8].

Патогенез столбняка изучен недостаточно. Поэтому до сих пор не существует надежных диагностических и прогностических маркеров этого заболевания, а также лечебных средств, способных нейтрализовать фиксированный тетанотоксин и восстановить нарушения, связанные с его влиянием на нервную систему. Все это во многом обуславливает симптоматический характер существующих методов лечения столбняка.

В последние годы установлено, что в развитии многих патологических состояний, в том числе и терминальных, играет важную роль оксидативный стресс (ОС) [4, 6, 7, 9, 10, 11]. В общепатологическом плане ОС сопровождается интенсификацией свободнорадикального окисления (СРО) биомолекул (белков, нуклеиновых кислот и др.), перекисного окисления липидов (ПОЛ), дестабилизацией липид-белковых связей липопротеидных комплексов, а также нарушением такого важного неферментативного звена антиоксидантной системы, как тиолдисульфидная окислительно-восстановительная система (ТДС) [3, 4, 6, 13, 14]. Причем в клинических условиях о

равновесии между прооксидантными (ПО) и антиоксидантными (АО) процессами можно судить по количеству белковых и небелковых -SH и -S-S- групп и соответствующим SH/SS коэффициентам, содержанию конечного продукта ПОЛ — малонового диальдегида и по прочности связи липид-белок в липопротеидных комплексах (ЛПК) [2, 3, 5-7, 9-11].

Тем не менее до сих пор в научных публикациях ТДС не рассматривалась как особый объект повреждения при столбняке. Мы не встретили данные, касающиеся комплексной оценки состояния прооксидантных и антиоксидантных процессов по вышеуказанным показателям и их использования в клинике для объективной оценки окислительной модификации белков, формирования оксидативного стресса или дистресса, а также для прогнозирования течения и исхода этого инфекционного заболевания.

О целесообразности проведения вышеуказанных исследований при столбняке свидетельствует описанный нами случай из практики.

Материалы и методы исследования

Клинический случай. Больной А., 1940 г.р., доставлен в ВМКЦ ЮР 01.03.2010 г. в тяжелом состоянии с жалобами на тризм жевательной мускулатуры, ригидность затылочных мышц, скованность в мышцах плечевого пояса, слабость, повышенную потливость. Травму получил 23.02.2010 г. в 18.00 (со слов больного и родственников, упал на улице, при этом ударился головой и левой кистью о землю). Самостоятельно наложил асептические повязки. В дальнейшем за медицинской помощью не обращался. 27.02.2010 отметил скованность в мышцах лица и шеи, 28.02.2010 скованность усилилась, обратился в ВМКЦ ЮР, где находился на лечении с 01.03.2010 по 12.03.2010. Размещен в отделении анестезиологии и реанимации с диагнозом: Генерализованный раневой столбняк, период разгара.

Проводилось следующее лечение:

1. Противостолбнячная сыворотка в/в капельно в разведении 1:10 с физиологическим раствором хлорида натрия 01.03.2010 — 165000 ЕД, 02.03.2010 — 65000 ЕД, 03.03.2010 — 35000 ЕД.

2. Столбнячный анатоксин 1 мл в/м 01.03.2010, 04.03.2010 и 07.03.2010.

3. Противостолбнячный человеческий иммуноглобулин — по 900 МО в/м в разные места (бедрa, ягодичные области) после внутривенной пробы 06.03.2010 и 07.03.2010.

4. Антибактериальная терапия по принципам лечения анаэробной инфекции (цефтриаксон 2 г в/м 2 раза в сутки, гатимак 400 мг в/в капельно 1 раз в сутки, метрид 100 мл в/в капельно 3 раза в сутки, флуконазол 100 мл в/в капельно 1 раз в сутки).

5. Противосудорожная терапия, продленная ИВЛ.

6. Борьба с гипертермией.

7. Инфузионно-дезинтоксикационная терапия.

8. Зондовое питание со 2-х суток с момента госпитализации (3000 ккал в сутки).

9. Хирургическое лечение — хирургическая обработка раны 3-го пальца левой кисти (01.03.2010), ампутация 3-го пальца левой кисти с резекцией головки 3-й пястной кости (02.03.2010), верхняя трахеостомия (05.03.2010).

10.03.2010 у больного развился эпидермальный некролиз кожи (синдром Лайелла) поясничной области, обеих ягодичных областей, задней поверхности обеих бедер в верхней трети общей площадью 10%. Несмотря на проводимое лечение, состояние больного прогрессивно ухудшалось. 12.03.2010 в 4.10 наступила смерть.

Патолого-анатомический диагноз

Основное заболевание:

Общий (генерализованный) травматический (раневой) столбняк, период разгара, особо тяжелая форма течения заболевания (по клиническим данным).

Фоновое заболевание:

Бытовая травма — ушибленная рана левой надбровной области, рваная рана третьего пальца левой кисти.

Операции: вторичная хирургическая обработка нагноившейся рваной раны третьего пальца левой кисти, (1.03.2010); ампутация третьего пальца левой кисти с резекцией головки третьей пястной кости (2.03.2010).

Осложнения:

Гнойный трахеобронхит. Операция: верхняя трахеостомия (5.03.2010).

Правосторонняя верхне- и среднедолевая очаговая пневмония. Отек легких. Отек головного, спинного мозга. Множественные очаговые некрозы поджелудочной железы, обширный эпидермальный некролиз на коже спины, пояснично-крестцовой и ягодичной области (10% от площади тела), дистрофия паренхиматозных органов.

Сопутствующее заболевание:

Аденома предстательной железы.

Непосредственной причиной смерти явилось основное заболевание — столбняк, осложнившийся интоксикацией, обусловленной осложнениями основного заболевания.

Больному А. с момента поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии и вплоть до определившегося исхода его заболевания ежедневно проводились общеклинические и биохимические исследования крови. Дополнительно оценивали состояние ТДС сыворотки крови по содержания белковых и небелковых -SH и -S-S- групп. Детекцию этих функциональных групп осуществляли методом обратного амперометрического титрования раствором азотнокислого серебра [12] в модификации [5]. По соотношению между количеством -SH и -S-S- групп рассчитывали белковый и небелковый SH/SS окислительно-восстановительный коэффициент (SH/SS коэффициент) [6]. По значениям указанных коэффициентов судили о сдвиге окислительно-восстановительного равновесия ТДС в сторону восстановленных (R-SH) или окисленных (R-S-S-R) форм тиолов в белках и низкомолекулярных соединениях [7, 10].

Интенсивность перекисного окисления липидов изучали по содержанию малонового диальдегида (МДА), которое определяли в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) по концентрации ТБК-активных продуктов [2].

Устойчивость липид-белковых связей в ЛПК сыворотки крови оценивали по их прочности в эфирной пробе [7] и выражали в условных единицах оптической плотности — ДИ, причем чем выше величина ДИ, тем ниже прочность липид-белковых связей.

Для уточнения референтных значений содержания белковых и небелковых -SH и -S-S- групп, уровня МДА и устойчивости ЛПК обследована контрольная группа доноров (КГД), которую составили 145 практически здоровых доноров Центра крови (мужчин — 89, женщин — 56), в возрасте от 26 до 67 лет.

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно данным табл. 1, у пациента А. лишь на третий день от начала госпитализации и в последующем на протяжении всего

периода мониторингования стали появляться отчетливые лабораторные признаки нарушения общего анализа крови: лейкоцитоз, палочкоядерный сдвиг, выраженная лимфопения и тромбоцитопения, повышение СОЭ. Тем не менее существенных нарушений содержания гемоглобина, эритроцитов и показателей гематокрита не обнаружено.

Таблица 1

Результаты общеклинического анализа крови пациента А. при ежедневном мониторинговании

Изучаемые показатели	01.03.2010	02.03.2010	03.03.2010	04.03.2010	05.03.2010	06.03.2010	07.03.2010	08.03.2010	09.03.2010	10.03.2010	11.03.2010
	12:35	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00
Гемоглобин, г/л	152	148	157	146	156	140	134	136	169	140	148
Эритроциты, Т/л	5,14	4,82	5,20	3,5	4,92	4,43	4,1	4,31	5,6	4,52	4,9
Гематокрит, Ед.	0,46	0,44	0,46	0,35	0,48	0,44	0,38	0,43	0,55	0,41	0,45
Лейкоциты, Г/л	8,5	7,3	14,3	20,3	14,9	11,2	9,20	13,10	12,40	9,00	11,1
СОЕ, мм/час	24	30	32	29	20	15	19	12	14	11	19
Лейкоформула, %:											
- палочкоядерные	-	8	12	19	12	-	-	-	15	11	12
- сегментоядерные	-	72	74	60	70	-	-	-	63	70	76
- эозинофилы	-	1	2	1	1	-	-	-	5,00	2,00	2
- лимфоциты	-	15	6	12	9	-	-	-	8	13	8
- моноциты	-	4	6	8	8	-	-	-	9	4	2
Тромбоциты, Г/л	-	227	250	72	186	-	-	-	116	63	101

Примечание: здесь и далее — исследование не проводилось.

Что касается биохимических исследований крови (табл. 2), то у больного А. имело место стабильное повышение содержания мочевины и глюкозы, а также снижение уровня калия и натрия. Периодически отмечалось нарушение активности амилазы, причем как повышение, так и снижение. Вместе с тем существенных нарушений содержания общего белка, креатинина и билирубина в сыворотке крови не обнаружено.

**Результаты биохимического анализа крови пациента А.
при ежедневном мониторинговании**

Изучаемые показатели	01.03.2010	02.03.2010	03.03.2010	04.03.2010	05.03.2010	06.03.2010	07.03.2010	08.03.2010	09.03.2010	10.03.2010	11.03.2010
	12:35	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00
Общий белок, г/л	79,2	-	74,2	72	80,6	70	69,8	-	68,9	65,5	65,5
Мочевина, ммоль/л	5,0	9,1	10,1	8,3	11,2	14,5	16,2	-	14,1	13,1	10,2
Креатинин, мкмоль/л	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,088	-
Билирубин общий, мкмоль/л	16,4	-	9,50	10,4	12,4	13,2	10,4	-	-	16,2	14,6
Амилаза, Ед/л	20	-	65,2	71,3	133	-	-	-	92	29	-
Глюкоза, ммоль/л	6,5	5,6	7,0	6,9	8,7	8,1	10,2	-	9,8	11,8	10,6
Калий, ммоль/л	-	-	2,1	-	3,8	-	-	-	-	4,6	4
Натрий, ммоль/л	-	-	124	-	132	-	-	-	-	138	130

Большой интерес представляют результаты исследования содержания белковых и небелковых -SH и -S-S- групп и SH/SS коэффициентов в сыворотке крови пациента А. по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы практически здоровых доноров.

Прежде всего целесообразно рассмотреть референтные значения этих показателей в сыворотке крови доноров (табл. 3).

Содержание -SH и -S-S- групп и SH/SS коэффициенты в сыворотке крови практически здоровых доноров (n=145)

	Белковые компоненты ТДС	Небелковые компоненты ТДС
-SH, мкмоль/л	525±5,38	1,06±0,07
-S-S-, мкмоль/л	144±3,76	42,23±0,62
SH/SS коэффициент	3,78±0,14	0,03±0,002

Согласно данным табл. 3, в сыворотке крови доноров содержание белковых -SH групп (525±5,3 мкмоль/л) преобладает над количеством белковых -S-S- групп (144±3,7 мкмоль/л), поэтому белковый SH/SS коэффициент в сыворотке крови доноров был >1 и составлял 3,78±0,14. Наряду с этим в сыворотке крови доноров содержание небелковых -SH групп (1,06±0,07 мкмоль/л) существенно ниже, чем уровень небелковых -S-S- групп (42,23±0,62 мкмоль/л), поэтому небелковый SH/SS коэффициент был <1 и составлял 0,03 ± 0,002.

Следовательно, в сыворотке крови доноров содержание белковых -SH и -S-S- групп и белковый SH/SS коэффициент коренным образом отличались от содержания небелковых -SH и -S-S- групп и небелкового SH/SS коэффициента, то есть значения этих показателей в белках и низкомолекулярных тиолах были диаметрально противоположными. Полученные результаты наглядно демонстрируют, что у доноров наблюдается стабильный сдвиг тиолдисульфидного равновесия в белках — в сторону восстановительных (R-SH) форм, а в низкомолекулярных тиолах — в сторону окисленных (R-S-S-R) форм.

По сравнению с донорами у пациента А. начиная с первого дня госпитализации и вплоть до определившегося исхода заболевания имело место прогрессирующее снижение содержания белковых -SH групп, повышение уровня белковых -S-S- групп и снижение белкового SH/SS коэффициента наряду с одновременным прогрессирующим повышением содержания небелковых -SH групп, снижением уровня небелковых -S-S- групп и повышением небелкового SH/SS коэффициента (табл. 4).

Содержание -SH и -S-S- групп (мкмоль/л) и SH/SS коэффициенты (абс.) в сыворотке крови пациента А. при ежедневном мониторинговании

Изучаемые показатели*	01.03.2010	02.03.2010	03.03.2010	04.03.2010	05.03.2010	06.03.2010	07.03.2010	08.03.2010	09.03.2010	10.03.2010	11.03.2010
	12:35	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00
pSH	423	468	435	604	398	368	324	-	324	589	298
pSS	234	217	256	154	298	302	356	-	400	156	456
pSH/SS	1,81	2,16	1,70	3,92	1,34	1,22	0,91	-	0,81	3,78	0,65
npSH	12,75	14	10,5	18,75	21	25,75	18	-	38	28	42
npSS	35	38	32,0	34	30	32	36	-	24	32	26
npSH/SS	0,36	0,37	0,33	0,55	0,70	0,80	0,50	-	1,58	0,88	1,62

* Примечание: 1) p — белковые компоненты ТДС; 2) np — небелковые компоненты ТДС.

Согласно полученным данным, у больного А. характер и направленность нарушения содержания белковых -SH, -S-S- групп и белкового SH/SS коэффициента коренным образом отличались от нарушения содержания небелковых -SH, -S-S- групп и небелкового SH/SS коэффициента, то есть направленность изменения этих показателей была диаметрально противоположной.

Важно отметить, что за 4-5 дней до летального исхода заболевания у больного А. обнаружены критические нарушения изучаемых показателей, о чем свидетельствуют следующие данные. Установлено, что за 4-5 дней до летального исхода заболевания у больного А. стали наблюдаться «парадоксальные» реакции белковых и небелковых компонентов тиолдисульфидной системы. Так, у него обнаружена стабильная инверсия белкового (начиная с 7.03.2010 г.) и небелкового (начиная с 9.03.10 г.) SH/SS коэффициентов, значения которых были соответственно < 1 и > 1 . Это обусловлено коренным изменением соотношения между белковыми -SH и -S-S- группами и небелковыми -SH и -S-S- группами на обратное, т.е. у больного А. имело место парадоксальное нарушение тиолдисульфидного равновесия в белках — в сторону окисленных (R-S-S-R) форм и в низкомолекулярных тиолах — в сторону восстановительных (R-SH) форм.

Как правило, описанные феномены появляются у больных, находящихся в критической стадии заболевания, и даже наличие одного из них является предиктором летального исхода [7].

Кроме того, у пациента А. начиная с первого дня госпитализации и вплоть до определившегося исхода заболевания имело место значительное повышение содержания малонового диальдегида (норма 2,4-6,4 мкмоль/л) и снижение прочности связи липид-белок в ЛПК (норма 37-92 ДИ) (табл. 5).

Таблица 5

Содержание малонового диальдегида (мкмоль/л) и устойчивость липопротеидных комплексов (ДИ) в сыворотке крови пациента А. при ежедневном мониторинговании

Исследуемые показатели	01.03.2010	02.03.2010	03.03.2010	04.03.2010	05.03.2010	06.03.2010	07.03.2010	08.03.2010	09.03.2010	10.03.2010	11.03.2010
	12:35	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00	6:00
МДА	29,2	30,2	31,4	32,5	34,7	37,8	40,2	-	43,2	48,6	50,9
Устойчивость ЛПК	176	189	198	204	225	214	236	-	302	268	299

Полученные данные свидетельствуют, что у больного А. имеет место выраженная интенсификация ПОЛ с чрезмерной генерацией, задержкой нейтрализации и утилизации МДА и окислительной модификацией белковых и липидных структур ЛПК.

Следует иметь в виду, что уровень МДА является маркером эндогенной интоксикации, а -SH и -S-S- групп представляют собой важный обезвреживающий тандем, поэтому, с учетом тяжести клинического течения и исхода заболевания, значения этих показателей у больного А. свидетельствуют о декомпенсации систем детоксикации.

Кроме того, в плане клинической интерпретации обнаруженные у больного А. инверсия белкового и небелкового SH/SS коэффициентов, повышение уровня МДА и дестабилизация липид-белковых связей в ЛПК, можно расценивать как клинико-лабораторные критерии оксидативного дистресса.

Полученные результаты наглядно демонстрируют, что в развитии нарушений компенсаторных возможностей систем детоксика-

ции и антиоксидантной защиты при столбняке играют важную роль нарушение соотношения между восстановительными (-SH) и окисленными (-S-S-) группами в белках и низкомолекулярных тиолах, интенсификация ПОЛ с чрезмерной генерацией, задержкой нейтрализации и утилизации МДА и дестабилизация липид-белковых связей в ЛПК. Поэтому указанные анализы целесообразно использовать в качестве дополнительных биохимических маркеров при оценке тяжести и прогнозировании исхода столбняка.

Литература

1. Безлюда Н.П., Чебурахин А.С., Заруцкий Я.Л., Лурия И.А. и др. Хирургическая инфекция: Учебник для слушателей-хирургов Украинской военно-медицинской академии / Под ред. профессора Я.Л.Заруцкого. — Киев, 2009. — С. 225-231.
2. Данилова Л.А. Справочник по лабораторным методам исследования. — М.: Питер, 2003. — С. 396-397.
3. Мандриєвська Н.М. Стан ліпідних компонентів антиоксидантної системи крові при гострому запаленні // Одеський медичний журнал. — 1997. — №1. — С. 21-22.
4. Мешишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Глутатионові система організму за норми та патології // УБЖ. — 2002. — Т. 74, №4а. — С. 103.
5. Патент 20935 А UA, МПК 6 А 61 В 10/00, G 01 N 27/26 Спосіб визначення інфаркту та пристрій для його здійснення / Костюшов В.В. — № 96124935; Заявл. 27.12.96; Опубл. 27.02.98.
6. Соколовский В.В. Тиодисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма // Медицинская академия последипломного образования. — С.-Петербург. 1996. — 33 с.
7. Тиодисульфідна система і перекисне окислення ліпідів при критичних станах / Н.В.Костюшова, Л.В.Юрлова, І.І.Бокал, В.О.Ратушненко // Одеський медичний журнал. — 2005. — №5. — С. 67-70.
8. Цибуляк Г.Н. Столбняк. Хирургические инфекции: Практическое руководство / Под ред. И.А.Ерьюхина, Б.Р.Гельфанда, С.А.Шапошникова. — М.: Литтерра, 2006. — С. 688-699.
9. Ashfaq S., Abramson J.L., Jones D.P. et al. The Relationship Between Plasma Levels of Oxidized and Reduced Thiols and Early Atherosclerosis in Healthy Adults // J. Am. Coll. Cardiol. — 2006. — Vol. 47. — P. 1005.
10. Jones J.P., Go Y.M., Anderson C.L., Ziegler T.R. et al. Cysteine/cystine couple is a newly recognized node in the circuitry for biologic redox signaling and control // FASEB J. — 2004. — Vol. 18, №11. — P. 1246-1248.
11. Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome / J.M.Alonso de Vega, J.Diaz, E.Serrano, L.F.Carbonell //

- Crit. Care Med. — 2002. — Vol. 30, №8. — P. 1782-1788. (Intensive Care Unit, Hospital Naval del Mediterraneo, Cartagena, Spain) Медицинский реферативно-обзорный журнал. — 2003. — №1. — С. 7.
12. Kolthoff I.M., Harris W.E. Ampermetric Titration of Mercaptan with silver nitrate Using the Rotating Platinum Electrode // Ind. Eng. chem. Anal. — 1946. — №3. — P. 161-162.
 13. Mayer E.L., Jacobsen D.W., Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis // J. Am. Coll. Cardiol. — 1996. — Vol. 27. — P. 517-27.
 14. Refsum H., Ueland P.M., Nygard O., Vollset S.E. Homocysteine and cardiovascular disease // Annu. Rev. Med. — 1998 — Vol. 49. — P. 31-62.