

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Факультет  
физико–математических  
и естественных наук

Кафедра  
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.04.01 Биология

Магистерская программа Биохимия и молекулярная биология

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

на тему:

**«БИОХИМИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ И КРИТЕРИИ ИНТОКСИКАЦИИ  
ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ  
РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ»**

Студент  Мальцева Анастасия Юрьевна

Руководитель  Безручко Н. В.

Нормоконтролёр  Кручинина А.Д.

Рецензент  Боряев Г.И.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 03.06.17 № 13 )

Заведующий кафедрой  Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой хорошо (протокол заседания ГЭК от 22.06.17 № 5 )

Секретарь ГЭК  Кручинина А.Д.

Пенза, 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                |          |
|----------------------------------------------------------------|----------|
| <b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....</b>                                 | <b>4</b> |
| <b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>                                          | <b>5</b> |
| <b>1. ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.</b>                           |          |
| 1.1 Респираторные заболевания нижних дыхательных путей:        |          |
| общая характеристика ХОБЛ и пневмонии.....                     | 8        |
| 1.2 Проблема интоксикации организма при респираторных          |          |
| заболеваниях.....                                              | 14       |
| 1.3 Биохимические механизмы развития эндогенной                |          |
| интоксикации.....                                              | 17       |
| 1.4 Биохимические тесты и критерии эндогенной интоксикации при |          |
| респираторных заболеваниях .....                               | 21       |
| <b>2. ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.</b>            |          |
| 2.1 Материал исследования .....                                | 26       |
| 2.2 Методы исследований.....                                   | 26       |
| 2.2.1 Метод определения уровня молекул средней массы.....      | 26       |
| 2.2.2 Метод определения уровня общего белка .....              | 27       |
| 2.2.3 Метод определения уровня альбумина .....                 | 28       |
| 2.2.4 Метод определения уровня глюкозы .....                   | 29       |
| 2.2.5 Метод определения уровня креатинина.....                 | 31       |
| 2.2.6 Метод определения уровня мочевины .....                  | 32       |
| 2.2.7 Метод определения активности                             |          |
| аспартатаминотрансферазы.....                                  | 33       |
| 2.2.8 Метод определения активности                             |          |

|                                                                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| аланинаминотрансферазы.....                                                                                                                | 34        |
| 2.3 Статистическая обработка результатов исследования.....                                                                                 | 35        |
| <b>3. ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ</b>                                                                                 |           |
| 3.1 Исследование изменений уровней биохимических тестов<br>интоксикации организма человека при ХОБЛ .....                                  | 36        |
| 3.2 Исследование изменений уровней биохимических тестов<br>интоксикации организма человека при пневмонии .....                             | 39        |
| 3.3 Исследование изменений уровня молекул средней массы в<br>сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и<br>пневмонии .....  | 42        |
| 3.4 Исследование изменений уровня общего белка в сыворотке<br>крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии                    | 44        |
| 3.5 Исследование изменений уровня альбумина в сыворотке крови<br>трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии .....                 | 45        |
| 3.6 Исследование изменений уровня глюкозы в сыворотке крови<br>трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии .....                   | 47        |
| 3.7 Исследование изменений уровней креатинина и мочевины в<br>сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и<br>пневмонии ..... | 49        |
| 3.8 Исследование изменений активности аминотрансфераз в<br>сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и<br>пневмонии .....    | 52        |
| <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>                                                                                                                     | <b>56</b> |
| <b>ВЫВОДЫ .....</b>                                                                                                                        | <b>59</b> |
| <b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>                                                                                                              | <b>61</b> |

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**АКТГ** – адренокортикотропный гормон

**АЛТ** – аланинаминотрансфераза

**АСТ** – аспартатаминотрансфераза

**БОД** – болезни органов дыхания

**ИИ** – индекс интоксикации

**ЛДГ** – лактатдегидрогеназа

**ЛИИ** – лейкоцитарный индекс интоксикации

**МСМ** – молекулы средней массы

**ПОЛ** – перекисное окисление липидов

**ТХУ** – трихлоруксусная кислота

**ФАТ** – тромбоцит –активизирующий фактор

**ФНО** – фактор некроза опухоли

**ХОБ** – хронический обструктивный бронхит

**ХОБЛ** – хроническая обструктивная болезнь легких

**ЯИИ** – ядерный индекс интоксикации

## ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия болезни органов дыхания (БОД) по количеству заболеваемости и смертности составляют одно из ведущих мест среди всех заболеваний человека. Из них на такие болезни, как пневмония и хроническая обструктивная болезнь легких приходится 15,5% от всех БОД.[5]

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – заболевание, связанное с воспалительными процессами в тканях легких, которые вызываются длительным воздействием раздражающих факторов – патогенных газов и частиц. Современная концепция патогенеза ХОБЛ ставит в свою основу прогрессирующий характер частично необратимого нарушения тока воздуха по респираторному тракту, что в свою очередь вызывает развитие хронической дыхательной недостаточности. [55] В основе развития патогенеза пневмонии, как правило, лежат воспалительные процессы инфекционного происхождения, затрагивающие интерстициальную ткань легкого и альвеолы.[56]

До настоящего времени вопрос о развитии синдрома эндогенной интоксикации на фоне заболеваний респираторной системы организма человека остается открытым. Эндогенная интоксикация организма при патологии – это неспецифический синдром расхождения между образованием и выведением веществ «нормального» метаболизма, а также продуктов нарушенного обмена. [13] Степень нарушения процессов метаболизма соотнесена с характером фактора повреждения при патологии респираторной системы. Данные нарушения затрагивают не только иммунную систему, систему газообмена в условиях гипоксии и дезактивацию противoinфекционной защиты, но и необеспеченность управления объединением данных процессов. Все эти процессы могут приводить к развитию гиперметаболизма. [1] Данное критическое состояние отражает потребности в субстратах различных тканей, для того чтобы обеспечить компенсаторно–адаптивные реакции организма, что в свою очередь будет

тормозить процессы катаболизма белков, утилизации глюкозы на фоне увеличения глюконеогенеза, а также изменения затрагивающие процессы проницаемости мембран.

Ключевую роль при анализе процессов эндогенной интоксикации играет проведение мониторинга биохимических показателей крови, в частности затрагивающих изменения метаболических реакций белков и аминокислот. [35] Это позволяет рассматривать изменения в концентрации плазматического альбумина как один из важных маркеров эндогенной интоксикации, а снижение концентраций общего белка, в частности с помощью альбуминовой фракции, как показатель применения альбумина в процессах детоксикации, за счет связывания и транспортировки токсинов к местам их выведения.

Универсальными маркерами наличия эндогенной интоксикации в организме считают молекулы средней массы (МСМ). [48] Они представляют собой белки, а также продукты, образующиеся из них при нарушении их метаболизма. Состав МСМ разнообразен, к ним в частности относят биологически активные вещества, такие как нейротоксины, паратгормон, ингибиторы гемопоэза, фагоцитоза, а также продукты транспорта аминокислот и утилизации глюкозы; факторы обособления фосфорилирования и дыхания. [14] Преобладание таких процессов в организме и определяет токсичность МСМ, которая оказывает действие на процессы ингибирования дыхания в митохондриях, на реакции синтеза ДНК в лимфоцитах и гепатоцитах, а также на изменения в процессах утилизации глюкозы, активности ферментных систем и выведения креатинина.[22]

Довольно перспективной представляется диагностика эндогенной интоксикации, основанная на определении в крови изменений активности аминотрансфераз. Катализируя реакцию переноса аминокислоты от аминокислот на кетокислоты, они осуществляют интеграцию метаболизма белка и углеводов.[23,63] Кроме того, выраженные изменения их активности является важным показателем, который характеризует работу основного органа детоксикации – печени.

Таким образом, на настоящий момент, можно выделить большое количество методик определения интоксикации организма человека, но вместе с тем, критерии ранней оценки заболеваний отсутствуют. В связи с этим необходимо выявить биохимические тесты, позволяющие производить донозологическую характеристику заболеваний респираторной системы, а также критерии позволяющие разграничить различные формы заболеваний респираторной системы – основная поставленная проблема в нашей работе.

**Целью настоящей работы** было проанализировать биохимические тесты и разработать критерии интоксикации организма человека при заболеваниях респираторной системы.

**При выполнении работы, были поставлены следующие задачи:**

1. Проанализировать биохимические тесты и разработать критерии интоксикации организма человека при ХОБЛ.
2. Проанализировать биохимические тесты и разработать критерии интоксикации организма человека при пневмонии.
3. Проанализировать выраженность изменений биохимических тестов и критериев интоксикации организма человека при ХОБЛ и пневмонии.

Магистерская работа состоит из 3 глав, выполнена на 73 листах, содержит 2 таблицы и 12 рисунков, список литературы состоит из 97 источников литературы, из них 60 русских и 37 зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Респираторные заболевания нижних дыхательных путей: общая характеристика ХОБЛ и пневмонии

Хроническая обструктивная болезнь легких – непрерывно развивающееся заболевание, которое может характеризоваться как частично обратимой за счет лечения, так и необратимой обструкцией легких. Последнее влечет за собой формирование центриацинарной эмфиземы в дистальных дыхательных путях, а также хронического легочного сердца и легочной гипертензии, которые приводят к нарушениям газообмена в тканях и вентиляции легких по обструктивному типу. Данные процессы сопровождают прогрессивно развивающуюся легочно–сердечную и дыхательную недостаточность. [47] Во врачебной практике был распространен термин «хронический обструктивный бронхит» (ХОБ), при котором развивались аналогичные процессы в легочной ткани. Так как при ХОБ обструкция дистальных бронхов и эмфизема легких протекают параллельно, в настоящее время данное понятие было заменено термином ХОБЛ, в соответствии с международными рекомендациями ВОЗ. [41]

Данное заболевание легких включает в себя три основных компонента – патология проксимальных бронхов, патология дистальных бронхов (бронхиолит) и эмфизема легких. Механизм возникновения ХОБЛ проявляется в развитии прогрессирующих воспалительных реакций в дистальных бронхах, за счет воздействия внешних раздражающих факторов среды, например, воздействие сигаретного дыма или других патогенных газов и газовых частиц. [2, 34] При этом может наблюдаться инфильтрация стенок бронхиол Т – лимфоцитами, альвеолярными макрофагами и нейтрофилами. Морфологические изменения, которым подвергаются дыхательные пути, затрагивают процессы гипертрофии подслизистых желез, приводят к гибели ресничек эпителия и к его метаплазии, а также формированию избыточной

массы гладкой мускулатуры в стенке дыхательных путей. Такие процессы приводят к увеличению продукции слизи и мокроты, как результат к нарушениям функции дренажа бронхов. В результате фиброза происходит сужение бронхов, что является основной особенностью патологии периферических дыхательных путей, которая определяет ранний бронхиолит – главное патогенетическое звено, провоцирующее каскад реакций. [3] За счет процессов разрушения нейтрофилов высвобождается большое количество протеолитических ферментов. При этом наблюдается разрушение эластического каркаса легких и аутолизмежальвеолярных перегородок, что связано с неспособностью антипротеолитической системы (тканевые ингибиторы протеаз TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3,  $\alpha$ 1-антитрипсин) противостоять избыточной концентрации и растущей активности протеаз. Это может приводить к появлению дыхательной недостаточности на фоне развития центриацинарной эмфиземы. [3,15] Очевидно, что увеличение активности антипротеазной системы – это фактор, определяющий прогрессирование ХОБЛ и развитие эмфиземы у курильщиков. [76] При наследственном дефиците  $\alpha$ 1-антитрипсина разрушение альвеолярных стенок распространяется на все легкое – клиническое проявление данных процессов определяется наличием панацинарной эмфиземы. [34]

За счет выработки цитокинов и свободных радикалов как в бронхолегочной, так и в сердечно – сосудистой системе, помимо местного начинает развиваться и системное воспаление, которое можно проследить на ранних стадиях ХОБЛ. Данные процессы подтверждаются увеличением концентрации маркеров воспаления в крови, к ним относятся: С – реактивный белок (СРБ), провоспалительные цитокины (интерлейкин – 6, интерлейкин – 8, интерлейкин – 1 $\beta$ , фактор некроза опухоли  $\alpha$ ), фибриноген и лейкоциты. [71,86] Активизация системы комплемента, усиление адгезии лейкоцитов сосудистым эндотелием и также захват липопротеинов низкой плотности макрофагами, происходят за счет СРБ на фоне усиления продукции цитокинов. [87]

Особую роль в развитии патогенеза ХОБЛ играет свободно – радикальное окисление (СРО). [1] Свободные радикалы – это молекулы перекиси водорода, либо их фрагменты (гидроксильный радикал, супероксидный анион), которые имеют в атоме кислорода неспаренный электрон, а также могут вступать во взаимодействие между собой. При этом происходит образование перекиси водорода или окисление органических молекул. [69] Свободные радикалы образуются при активации Т–лимфоцитов и нейтрофилов, а также присутствуют в дыме сигарет. Для них характерны следующие отрицательные эффекты: активация нейтрофилов, за счет запуска факторов некроза ядерного опухоли  $\alpha$ , интерлейкина–8 и фактора (NF –  $\kappa$ B), а также ингибирование протеаз. [38,74] Процессы пероксидации приводят к высвобождению в повышенном количестве биологически активных веществ: серотонин и гистамин. Они индуцируют бронхоспазм, а также способствуют сгущению мокроты. [43] Процессы СРО развиваются лавинообразно в различных тканях и органах, контролируются при этом физиологической антиоксидантной системой. В литературных данных присутствует подтверждение, что антиоксидантная система состоит из двух механизмов. Первый механизм протекает в антирадикальной цепи «глутатион – аскорбат – токоферол», которая участвует в процессах ингибирования СРО на стадии образования свободных радикалов. Второй механизм затрагивает группы антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза), которые участвуют в процессах элиминации образовавшиеся перекиси. [43,84]

В норме равновесие в системе оксиданты – антиоксиданты сохраняется, если происходит активация процессов изменения такого баланса в сторону оксидантов, то это может приводить к инициации СРО, а также развитию оксидативного стресса. Последний, выражается в увеличении продукции свободных радикалов на фоне недостаточной антиоксидантной защиты. [27] Очевидно, что при нарушении газообмена и вентиляции в тканях легких происходит выраженное увеличение активности симпатического отдела вегетативной нервной системы, что сопровождается выбросом катехоламинов,

в частности норадреналина. [26] Это способствует повышению выработки ангиотензина II, который оказывает значительный вазоконстрикторный эффект. Параллельно в эндотелии происходит процесс торможения синтеза эндогенных релаксирующих факторов, таких как оксид азота (NO), простациклин (PGI<sub>2</sub>), простагландин E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). [83]

Пневмония – это острое заболевание инфекционно-воспалительного характера. Патологический процесс при этом распространяется очагами в респираторных отделах бронхов и интерстициальной соединительной ткани легких.

Наиболее часто встречающимся возбудителем данного заболевания является *Streptococcus pneumoniae*. [70] Изучение этого микроорганизма привело к значительному прогрессу в понимании патогенеза пневмококковой пневмонии. Защита от фагоцитоза полиморфноядерными лейкоцитами осуществляется капсулой, химический состав и размер которой, определяет вирулентность пневмококка. [77,81] Согласно литературным данным, высокая воспалительная активность в легких не может быть вызвана очищенным капсульным полисахаридом, а проявляется только у недекапсулированного пневмококка. [78] Под капсулой находится клеточная стенка, которая может быть доступна для некоторых компонентов острофазового ответа. Этот факт подтверждается ее способностью фиксировать комплемент. Компоненты, присутствующие в клеточной стенке микроорганизма способствуют выходу лейкоцитов в легкие, увеличивают продукцию цитокинов, обеспечивают усиленную проницаемость эндотелия сосудов мозга и легочного альвеолярного эпителия, инициируют продукцию тромбоцит – активизирующего фактора (ФАТ), стимулируют каскад свертывания, активируют повреждение нейронов. Провоспалительная активность клеточной стенки обеспечивается присутствием в ней тейхоевой кислоты. [80] В состав данной кислоты входит фосфорилхолин, который в свою очередь является также критическим детерминантом биоактивности ФАТ. За счет взаимодействия фосфорилхолина и ФАТ–рецепторов происходит

увеличение адгезивной способности пневмококка к активированным клеткам. Также согласно литературным данным имеет место заключение, что адгезия пневмококков *in vitro* может быть усилена цитокинами и вирусами. [87]

Большое количество особенностей пневмококковой пневмонии было выяснено по средствам изучения компонентов клетки возбудителя, например, при детальном рассмотрении капсулы, клеточной стенки, и фракции цитоплазматической мембраны на способность стимулирования накопления белка в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, ученые смогли идентифицировать фактор, вызывающий не только отек в легких, но активирующий прокоагулянтный каскад. [71,80] Данные исследования показали зависимость прогрессирования данной активности и развитие отека в легких, отложение фибрина при ранних повреждениях легочной ткани, а также роль лейкоцитов в прерывании данных событий. Если легкие подвергаются воздействию низкой дозы возбудителя, то небольшое количество лейкоцитов выходит к месту повреждения и уничтожает пневмококки. Такие реакции тормозят отек, и он разрешается без остаточных повреждений. При высокой концентрации возбудителя, происходит выход большого количества лейкоцитов, что в свою очередь инициирует стадию серого опеченения. Помимо того в процессах усиления воспалительных реакций в легких участвует комплемент макроорганизма. [81] Перемещение лейкоцитов в альвеолярное пространство происходит двумя способами – в привлечении половины лейкоцитов участвуют молекулы интегрины, лейкоцитарной адгезии, семейства CD18, что доказано способностью анти-CD18 антител уменьшать количество лейкоцитов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости. [78] Вторая половина лейкоцитов привлекается менее изученным, CD18-независимым путем. Этот путь является уникальным для легочного воспаления, которое было вызвано пневмококком. [80]

Литературные данные свидетельствуют об исключительной роли цитокинов в патогенезе пневмонии. При развитии процессов патогенеза,

начальное место активации воспалительного ответа находится в легком, и имеются данные в пользу того, что фактор некроза опухоли альфа (ФНО –  $\alpha$ ) служит при этом ключевым медиатором. [74] Так у пациентов с односторонней пневмонией было обнаружено увеличение уровня ФНО –  $\alpha$  в бронхоальвеолярной жидкости пораженного легкого, а в противоположном легком либо не проявлялось, либо концентрация была не выше нормы. [6] Тем не менее, в сыворотке крови пациентов с пневмонией при тяжелом течении заболевания, могут присутствовать цитокины. Это подтверждается обнаружением высокого уровня ФНО –  $\alpha$  в сыворотке крови у пациентов с тяжелой пневмонией. [11]

Также было отмечено, что при тяжелой пневмонии наблюдается увеличение уровня ФНО –  $\alpha$  и IL-1 в сыворотке крови, а степень их повышения отражает тяжесть заболевания и прогноз. [64] Согласно литературным данным было показано, что защита организма человека при пневмонии, обусловленной *Pseudomonasaeruginosa*, происходит эффективнее за счет отсутствия или ограничения эндогенной активности IL-1. [56] Помимо этого была установлена диагностическая ценность измеряемых концентраций в сыворотке крови IL-6 и интерферона гамма. [40] Так как IL-6 является дистальным цитокином, его основные физиологические эффекты отличаются от таковых IL-1 бета и включают в себя влияние на продукцию белков острой фазы в печени, индуцирование лихорадки и регуляцию иммунного ответа. [32]

При бактериальной пневмонии особую роль в реакциях воспалительного ответа играют взаимодействия между иммунными клетками, про- и противовоспалительными цитокинами, такими как интерлейкин-1 и ФНО –  $\alpha$ . Интерлейкин-1 рецепторный антагонист (IL-1ra), который конкурентно связывает рецепторы IL-1 рецептора. Это способствует возникновению ингибирующего эффекта на IL-1 зависимое воспаление. Растворимый рецептор к фактору некроза опухоли I (sTNF-RI) представляет укороченную форму ФНО рецептора. Он нейтрализует биологическую активность ФНО –  $\alpha$

за счет конкурирования с рецепторами, находящимися на поверхности клеток, за связывание с ФНО –  $\alpha$ . Стимуляция синтеза белка IL-1ra и выделения его лейкоцитами осуществляется за счет LPS, GM-CSF, ФНО –  $\alpha$ , IL-1, и IL-10 *invitro*. [10] Согласно литературным данным ФНО –  $\alpha$  может быть медиатором активации ответа IL-1ra при патологии. [71] Так была отмечена существенная корреляция между выделением противовоспалительных цитокинов (IL-1 рецепторный антагонист и растворимый рецептор ФНО типа I) в цельной крови при стимуляции липополисахаридом у пациентов с внебольничной пневмонией и количеством лейкоцитов в крови. Также проведенный эксперимент *invitro* показал, что совместная инкубация в периферической крови мононуклеарных клеток с аутологичными полиморфнонуклеарными гранулоцитами приводила к выраженному увеличению выделения этих цитокинов. [59] Данные результаты служат показателем того, что при пневмонии полиморфнонуклеарные гранулоциты могут быть оказывать влияние на повышение уровней противовоспалительных цитокинов. [87]

## **1.2. Проблема интоксикации организма при респираторных заболеваниях**

Известно, что большое количество заболеваний сопровождаются развитием синдрома эндогенной интоксикации, которая ухудшает клиническую картину патологии, а также при резкой выраженности может представить угрозу для жизни человека. В настоящее время известны основные биохимические механизмы развития эндогенной интоксикации, за счет интенсивного изучения общих механизмов повреждения клеток организма в условиях воспалительного процесса при патологии респираторной системы. Так, в частности, происходит усиленная активация

тканевого протеолиза, которая приводит к избыточному накоплению токсичных молекул средней массы. [49] Затем активируются процессы свободнорадикального окисления липидов биологических мембран. [1] Также не малую роль играет воздействие на клетки бактериальных токсинов. [76] Тем не менее, вопрос о лабораторной оценки степени тяжести интоксикации организма изучен достаточно мало. С одной стороны, достаточно широкие возможности открываются при анализе методов эндогенной интоксикации, в свою очередь к таковым относятся биохимические [12], биофизические и гематологические методы. [13] С другой стороны, данные, которые могут быть получены с помощью различных методов исследования, трудно сопоставимы. Большинство из известных методов не только косвенно отражают тяжесть интоксикации в условиях патологии, но и не могут быть проведены в условиях клинико–диагностических лабораторий. Поэтому, актуальность проблемы применения дешевых, в условиях большинства биологических лабораторий, методов количественной оценки степени тяжести эндогенной интоксикации остается открытой.

Обусловленный, как действием токсинов микроорганизмов [76], продуктов деструкции легочной ткани [29], так и биологически активных веществ, которые накапливаются в результате выпадения детоксицирующей функции легких [14], синдром эндогенной интоксикации является основной клинической картиной течения респираторных заболеваний. [68] Наиболее выраженная интоксикация при респираторных заболеваниях характерна для обострений ХОБЛ, бронхоэктатической болезни и бронхиальной астмы. [61,65] Наиболее выраженная интоксикация характерна также для течения инфекционно – воспалительных патологий легочной ткани – пневмонии, туберкулеза, гангрены и абсцесса легкого. [33,77]

Показано, что тяжесть воспалительного процесса оказывает прямое влияние на клинические проявления интоксикационного синдрома. [31] Так чем обширнее прогрессирует патологический процесс, тем более выражены симптомы эндогенной интоксикации. Прежде всего, они обусловлены

наличием в организме избыточного количества токсических продуктов воспаления. Последние включают в себя биологически активные вещества – гистамин, брадикинин, серотонин, воспалительные простагландины (D2, F2a) и тромбоксан A2, интерлейкины (ИЛ–1, ИЛ–6, ИЛ–8, ИЛ–12, ИЛ–18), лейкотриены (LT C4, LT D4, LT E4). Протеолитические ферменты, играющие основную роль в воспалительном ответе при респираторных заболеваниях, оказывают влияние на нарушение микроциркуляции в системе легочной артерии, а также частично всасываются в кровь. [86]

Большинство воспалительных поражений легких и бронхов протекают на фоне нарушения бронхиальной проходимости, а также уменьшения функционирования дыхательной поверхности легких. При этом происходит развитие явлений артериальной гипоксемии, альвеолярной гиповентиляции и тканевой гипоксии.[29]

За счет возникновения процессов гипоксии в легких происходит образование продуктов окислительного стресса. К таковым, в частности, относятся – недоокисленные продукты жирового и углеводного обменов, а также свободные кислородные радикалы. Они, в свою очередь, обуславливают процессы, связанные с деструкцией мембран клеток и метаболического ацидоза, что усугубляет прогрессирование интоксикации организма. Изучение биохимических процессов эндогенной интоксикации указывают на то, что являясь следствием основного заболевания, интоксикация организма существенно отягощает течение воспалительных заболеваний легких и может приводить к осложнениям вплоть до летального исхода. [31]

### **1.3. Биохимические механизмы развития эндогенной интоксикации**

Вещества, которые способны вызвать самоотравление организма в условиях патологии, достаточно распространены. Так доказано, что в условиях интоксикации выход любого метаболита из равновесия, то есть чрезмерного накопления его в организме, может оказывать токсическое

действие на ткани и органы. [68] Классификация эндотоксинов происходит по механизму их образования и механизму их выведения. [13]

Классификация эндотоксинов по механизму их образования [13,67]:

1. Высокие концентрации продуктов нормального обмена веществ (мочевина, креатинин, [билирубин](#), лактат, пируват, мочевая кислота и другие);
2. Высокие концентрации продуктов [метаболизма в условиях патологии](#) ([спирты](#), кетоны, карбоновые кислоты, [альдегиды](#), [аммиак](#) и другие);
3. Продукты тканевой деструкции, а также продукты, образующиеся при нарушении барьерной [функции](#) мембран (катионные [белки](#), миоглобин, липазы, лизосомальные [ферменты](#), индол, скатол, фенол и другие);
4. Высокие концентрации компонентов и эффекторы регуляторных систем организма в условиях патологии;
5. Активированные ферменты (протеолитические, лизосомальные, продукты системы свертывания крови и фибринолиза);
6. Высокие концентрации медиаторов воспаления, биогенных [аминов](#), цитокинов, [простагландинов](#), лейкотриенов, [а также белков](#) острой фазы и других [биологически активных веществ](#);
7. Высокие концентрации активных соединений, которые формируются при перекисном окислении липидов;
8. Микробные токсины (экзо – и эндотоксины) и другие факторы патогенности микроорганизмов (патогенных, условно патогенных, непатогенных);
9. Иммуночужеродные продукты клеточного распада, [антигены](#) и иммунные комплексы – агрессоры.

Классификация эндотоксинов по механизму их выведения [13,67]:

1. Выделение происходит через легкие – газообразные вещества;
2. Выделение происходит через [почки](#), кожу, за счет транспортировки белками или [клетками](#) крови в печень и легкие, с последующей

- биотрансформацией, при участии монооксигеназной системы – гидрофильные низко – и среднемолекулярные вещества;
3. Поглощаются клетками иммунной системы, за счет связывания с белками плазмы крови и приобретением свойств гаптенов – гидрофобные – и среднемолекулярные вещества;
  4. Моноцитарная элиминация макрофагальной системой – высокомолекулярные соединения.

Эндогенная интоксикация протекает как каскадный процесс, при этом ее прогрессирование связано с несоответствием между образованием токсических субстанций, в том числе образующихся в результате последующей токсической аутоагрессии, и способностью органов, входящих в функциональную систему детоксикации (легкие, печень, почки, кожа, система иммунологического надзора), их трансформировать, нейтрализовывать и элиминировать. [39] Существенное значение могут иметь нарушения соотношений между веществами антагонистами в гуморальных регуляторных системах (ферменты – антиферменты, оксиданты – антиоксиданты, цитокины – антоцитокينات и т.д.). Можно выделить несколько важнейших биохимических механизмов развития эндогенной интоксикации [44]:

1. Активация тканевого протеолиза;
2. Активация процессов свободнорадикального окисления;
3. Действие бактериальных токсинов.

Активация тканевого протеолиза представляет собой биохимический механизм, участвующий в развитии фундаментального патологического процесса – воспаления. Если в очаге воспаления происходит смещение реакции среды в кислую сторону, то происходит лабильная мембран лизосом, выход в цитоплазму протеаз, с последующей их активацией, а также процессы протеолитической деструкции ткани. [33]

Наряду с ролью протеолиза в происхождении вторичной токсической агрессии на фоне эндогенной интоксикации в настоящее время признается, активизация перекисного окисления липидов (ПОЛ). [29] Последняя за счет своей реакционной способности играет одну из ключевых ролей в формировании избыточной продукции в условиях интоксикации. На настоящее время СРО является одним из основных компонентов метаболических процессов, протекающих в норме во всех тканях организма человека. Постоянное обновление биологических мембран и наработка мембранолокализованных ферментов напрямую зависят от нормального протекания процессов ПОЛ. Согласно литературным данным, важную роль в регуляции мембранной проницаемости и в транспорте питательных и регуляторных веществ через клеточные мембраны, в синтезе лейкотриенов и простагландинов, в переносе электронов в цепи дыхательных ферментов, метаболизме стероидных гормонов и катехоламинов играет СРО. [36] Однако данные процессы могут проявляться только на фоне адекватного уровня ПОЛ. Так при значительном увеличении интенсивности СРО, на фоне избыточности ПОЛ, может происходить повреждение клеток и тканей организма.

Избыточное развитие процессов ПОЛ возрастает за счет углубления процессов эндогенной интоксикации. Данные процессы определяются изменением метаболизма, который, в свою очередь, играет ключевую роль в развитии механизмов эндогенной интоксикации. [67] Помимо накопления эндотоксинов, таких как активные формы кислорода и перекисей, а также мембраноповреждающее воздействие развитию синдрома интоксикации может способствовать избыточное накопление кетонов, альдегидов и спиртов, которые образуются в реакциях окисления жирных кислот. При этом особое значение имеет не только выраженность токсинемии, но и нормализация реакций антиоксидантной защиты организма. Так в ходе развития токсинемии она может быть изменена в связи с исходным состоянием организма больного или нарушаться в связи с патологическим явлением, которое привело к развитию эндогенной интоксикации. [62,68]

Дополнительная возможность усиления вторичной аутоагрессии – эндотоксины бактерий, факторы патогенности вирусов, грибов и простейших. [76] Они могут способствовать избыточному образованию многочисленных медиаторов воспаления, в частности, цитокинов. Последние, согласно литературным данным, считаются одними из важных эндотоксических средств. Яркими представителями данного рода медиаторов являются следующие: фактор некроза опухолей –TNF, интерлейкины (ИЛ–1, ИЛ–6, ИЛ–8) и фактор активации тромбоцитов. Эти медиаторы синтезируются активированными макрофагами, в том числе и резидентными макрофагами печени – клетками Купфера. [79]

Цитокины, могут выходить на первичные токсические стимулы, одними из самых мощных являются эндотоксины грамотрицательных бактерий. Такие медиаторы воспалительного процесса могут вызывать повреждения в эндотелии сосудов, в частности, эндотелий легочных капилляров, усиливать прокоагулянтную активность крови и выработку фактора активации тромбоцитов, а также продукцию последующих медиаторов – лейкотриенов с развитием таких привычных симптомов микробной и немикробной эндогенной интоксикации как лихорадка. [42]

Согласно данным экспериментальных исследований, можно определить следующие стадии развития процессов эндогенной интоксикации. [33]

1 стадия – реактивно – токсическая – как ответ на формирование первичного деструктивного очага или травматического повреждения. Лабораторные показатели, анализируемые при этой стадии следующие: увеличение концентрации молекул средней массы (МСМ), возрастание ЛИИ, увеличение продуктов перекисного окисления липидов. [49,97]

2 стадия – стадия усиленной токсемии. Развивается в ответ на прорыв гистогематического барьера, при котором в кровоток выходит избыток эндотоксинов. Последние, образовались в первичном очаге интоксикации, и с выходом происходит запуск процессов их распространения и накопления в организме. При этом можно выделить две стадии токсемии:

компенсированную и декомпенсированную, которые зависят не только от состояния организма, но и резистентности его детоксицирующих и иммунных систем. [44,89]

3 стадия – мультиорганный дисфункции. Она наблюдается при усилении прогрессирования патологии и за счет повреждения различных систем органов и тканей эндотоксинами. Клинические эффекты данной стадии выражаются в нарушении сознания, гипоксии, выраженной сердечной недостаточности, олигурии. Лабораторные показатели, анализируемые при данной стадии следующие: повышение концентрации креатинина, мочевины, билирубина. [39,68]

#### **1.4. Биохимические тесты и критерии эндогенной интоксикации при респираторных заболеваниях**

Известно, что биохимические тесты и критерии эндогенной интоксикации основываются на исследованиях основных параметров сыворотки крови. Последние являются важными показателями работы всех внутренних органов подверженных воздействию интоксикации и патогенеза. Лабораторные исследования судебно – медицинской экспертизы включают в себя следующие биохимические тесты [17]:

##### **1. Определение молекул средней массы.**

Молекулы средней массы – являются олигопептидами с массой от 500 до 5000 Д. Они являются токсинами белкового происхождения и имеют в своем составе высокое содержание дикарбоновых кислот. [16]

Обладая мембранотоксическим действием, МСМ могут инициировать появление пептидов, смежных по структуре с биорегуляторами. Можно выделить некоторые виды МСМ: гепатоцеребральные, ишемические, уремические и ожоговые. Состав МСМ разнообразен: они на 80% состоят из белков, из их метаболитов, например, продукты катаболизма глобулинов, фибриногена и глюкокортикоидов, а также из биологически активных

веществ, таких как паратгормон, нейротоксин X, ингибиторы фагоцитоза, хрупкости мембран эритроцитов, утилизации глюкозы и другие. Токсичность МСМ определяется их разнообразным составом, она затрагивает снижение розеткообразования, нарушение эритропоэза, синтеза ДНК в гепатоцитах и лимфоцитах, а также ингибирование дыхания митохондрий. [89] Такие эффекты определяют образование ложных медиаторов. Кроме того в результате взаимодействия с инсулином, они ингибируют фосфорилирование, за счет инактивации гормона, и тем самым приводят к нарушениям энергетического обмена в клетке.

## 2. Определение концентрации общего белка в плазме крови.

В условиях эндогенной интоксикации организма происходит уменьшение концентрации общего белка в крови до 45 г/л, что определяется как прогностически неблагоприятный признак. За счет использования альбумина для связывания и выведения токсинов, то есть фактора детоксикации, изменения в его концентрации играют важную роль. [94] Поэтому при интоксикации организма снижение уровня общего белка за счет альбуминовой фракции отражает тяжесть патологического процесса.

- увеличение альфа –2– глобулинов в два раза является показателем активации нарушений процессов дезаминирования;
- увеличение гамма – глобулинов отражает рост синтеза грубодисперсных белков;
- снижение альбумино – глобулинового коэффициента – это отношение количества альбуминов к количеству глобулинов, является показателем перехода альбуминов в ткани, за счет нарушения процессов проницаемости стенок сосудов. А так же в условиях выраженной интоксикации такие изменения отражают торможение процессов синтеза альбуминов в почечной ткани, как следствие, увеличение их катаболизма и переход их в другие белки, в частности, глобулины. Данные процессы способствуют усилению синтеза альфа – 2 и гамма – глобулинов. В норме альбумино – глобулиновый коэффициент колеблется колеблется от 1,5 до 2,3.[45,62]

### 3. Определение билирубина.

За счет возникновения в условиях эндогенной интоксикации мембранотоксического эффекта, происходит проникновение избыточного билирубина в клетку, который оказывает повреждающее действие на митохондрии. А также участвует в процессах ингибирования утилизации глюкозы и нарушения активности ферментов. Поэтому в условиях эндогенной интоксикации наблюдается увеличение уровня билирубина в крови до 30 ммоль/л и выше. Так же на концентрацию билирубина в крови оказывает влияние связывание с белками. [12] Так из-за вытеснения его из комплекса с альбумином лекарственными препаратами (гормонами, салуретиками) или гипоальбуминемии связывания не происходит, либо слабо выражено.

### 4. Определение мочевины и креатинина.

В условиях эндогенной интоксикации происходит изменение концентрации мочевины и креатинина: уровень мочевины возрастает до 16 ммоль /л и выше, а уровень креатинина до 0,2 ммоль/л и выше. Данные процессы чаще всего сопровождаются нарушением нейрогуморального контроля ЦНС. [16]

### 5. Токсическая энзимопатия.

– в условиях эндогенной интоксикации происходит изменение активности АЛТ, АСТ, ЛДГ. Увеличение активности данных ферментов отражает нарушение процессов проницаемости мембран клеток; [26,95]

– повреждение ферментативных клеточных процессов можно проследить за счет увеличения концентрации молочной кислоты, без повышения концентрации пировиноградной кислоты в условиях интоксикации организма; [16]

– в условиях эндогенной интоксикации происходит изменение концентрации ДНК-азы, РНК-азы, а также кислой фосфатазы. Увеличение концентрации данных показателей дает оценку тяжести деструкции клеток, лизиса внутриклеточных белков, а также отражает дефицит энергии клетки. [27]

### 6. Определение молочной кислоты.

В условиях эндогенной интоксикации организма происходит увеличение концентрации молочной кислоты в крови до 4 ммоль/л и выше, что указывает на неблагоприятный исход болезни. Такое изменение концентрации молочной кислоты служит показателем энергодефицитного состояния клеток, а также выраженной гипоксии. [6]

#### 7. Лейкоцитоз.

Определение лейкоцитоза в условиях эндогенной интоксикации приводят в комплексе с другими признаками. Общая картина биохимических тестов крови и лейкоцитоза свидетельствуют как о длительности заболевания, так и динамику, степень тяжести и поражения патологическим процессом органов. [13]

#### 8. Определение лейкоцитарного индекса интоксикации.

Нормальные значения ЛИИ колеблются от 0,3 до 1,5. [16]

#### 9. Определение ядерного индекса интоксикации.

ЯИИ отражает оценку состояния больного в условиях эндогенной интоксикации. При ЯИИ равном 0,052 – 0,087 состояние удовлетворительное, 0,32 – 0,9 – состояние средней степени тяжести, более 1,0 – состояние больного тяжелое. В стадии токсемии при интоксикации большинство эндо – и экзотоксинов белковой природы образуют микросгустки и агрегаты. Тем самым они, выходя из общего кровотока, способствуют снижению токсичности крови. Такие процессы могут иметь место при декомпенсации систем кроветворения и процессов детоксикации, уровень которых отражает снижение ЛИИ и ЯИИ. [13,16]

#### 1. Определение индекса интоксикации.

ИИ отражает оценку прогноза заболевания в условиях эндогенной интоксикации. При ИИ равном 35 – прогноз неблагоприятный, выше 45 – летальный исход. [13]

#### 2. Определение коэффициента нейтрофилы/лимфоциты.

Коэффициент нейтрофилы/лимфоциты – это отношение между клетками неспецифической и специфической защиты организма. В норме

равен 2,0. В случае тяжелой интоксикации организма уровень данного коэффициента возрастает до 4,0.[16]

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материал исследования**

Материал для исследования набран на базе ГБУЗ «Областного бюро судебно – медицинской экспертизы» г. Пенза за 2014–2016 гг. В качестве образца биологического материала служила кровь трупов людей разных возрастных групп – от 18 до 35 лет (группа 1), от 36 до 55 лет (группа 2) и от 56 лет и старше (группа 3), с давностью наступления смерти 24–48 ч до момента вскрытия. [12,17]

Причинами наступления летального исхода были: ХОБЛ и пневмония – диагнозы были верифицированы на основании вскрытия.

Клинико – биохимическими тестами, определяемыми в работе на обследованном материале, были:

- 1) Тесты эндогенной интоксикации организма человека: уровень МСМ.
- 2) Тесты интоксикации при респираторных заболеваниях: общий белок, альбумин, глюкоза, креатинин, мочевины, аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза.

Также было проведено ретроспективное исследование на основе архивного материала актов и заключений судебно – медицинских экспертов ГБУЗ ОБСМЭ за 2014–2016 гг., с целью изучения обстоятельств и времени наступления смерти, половозрастной характеристики погибших и лабораторных исследований биохимии крови.

### **2.2. Методы исследований**

#### **2.2.1. Метод определения уровня молекул средней массы**

Для исследования уровня средних молекул брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение

15 мин. Метод основан на освобождении плазмы крови от содержащихся в ней высокомолекулярных пептидов и белков с использованием трихлоруксусной кислоты (10% раствор) и количественном определении (при помощи прямой спектрофотометрии) в полученной после центрифугирования надосадочной жидкости уровня среднемолекулярных пептидов по поглощению в монохроматическом световом потоке. [9]

К 1 мл сыворотки крови по каплям приливали 0,5 мл 10% ТХУ, перемешивали и затем центрифугировали при 3000 об/мин 30 мин. Полученную надосадочную жидкость разводили водой в 10 раз и спектрофотометрировали при длине волны 254 нм. Полученная оптическая плотность соответствует условным единицам.

Нормальная концентрация уровня средних молекул в сыворотке крови **0,24 – 0,6 у.е.**

### **2.2.2. Метод определения концентрации общего белка**

Для исследования концентрации общего белка брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Метод основан на биуретовой реакции, входе которой белки реагируют в щелочной среде с сульфатом меди с образованием соединений, окрашенных в фиолетовый цвет, при этом интенсивность окраски зависит от концентрации общего белка в сыворотке. [92]

Готовили опытную пробу, для этого к 0,1 мл сыворотки прибавляли 5 мл рабочего раствора биуретового реактива и смешивали, избегая образования пены. Через 30 минут (и не позднее чем через час) измеряли на фотометре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 500 – 560 нм (зеленый светофильтр) против холостой пробы. Холостую пробу готовили следующим образом: к 5 мл рабочего биуретового реактива прибавляли 0,1 мл 154 ммоль/л раствора хлорида натрия, далее обрабатывали как опытную пробу.

Расчет вели по калибровочному графику, для его построения из калибровочного раствора готовили рабочие растворы согласно таблице.

| № пробирки | Калибровочный раствор альбумина, мл | 154 ммоль/л раствор хлорида натрия, мл | Концентрация альбумина, г/л |
|------------|-------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------|
| 1          | 0,2                                 | 0,8                                    | 20                          |
| 2          | 0,4                                 | 0,6                                    | 40                          |
| 3          | 0,6                                 | 0,4                                    | 60                          |
| 4          | 0,8                                 | 0,2                                    | 80                          |
| 5          | 1                                   | –                                      | 100                         |

Из каждого разведения брали по 0,1 мл рабочего раствора и прибавляли по 5 мл рабочего биуретового реактива. Через 30 – 60 минут измеряли на фотометре, как в опыте, против холостой пробы, начиная с наименьшей концентрации. По полученным данным строили калибровочный график. Калибровочная кривая линейна до 100 г/л альбумина.

Нормальная концентрация общего белка крови – 68 – 78 г /л.

### 2.2.3. Метод определения концентрации альбумина

Для исследования концентрации альбумина брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Метод основан на образовании окрашенных комплексных соединений при взаимодействии альбумина с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента. [11]

В три пробирки (холостая, стандартная и исследуемая пробы) вносили по 1 мл рабочего реактива (бромкрезолового зеленого), затем в исследуемую пробу добавляли 0,01 мл сыворотки крови, в стандартную – 0,01 мл стандартного раствора альбумина. Затем инкубировали в течение 10 минут при 37° С и колориметрировали при 630 – 690 нм против холостой пробы.

Процедура ручного пипетирования представлена в таблице:

|                   | Холостая проба | Исследуемая проба | Стандартная проба |
|-------------------|----------------|-------------------|-------------------|
| Рабочий реагент   | 1 мл           | 1 мл              | 1 мл              |
| Сыворотка, плазма | –              | 0,01 мл           | –                 |
| Стандарт          | –              | –                 | 0,01 мл           |

Концентрацию альбумина рассчитывали по формуле:

$$C_{\text{оп}} = (E_{\text{оп}} \times C_{\text{ст}}) / E_{\text{ст}}$$

где  $C_{\text{оп}}$  – концентрация альбумина в исследуемой пробе,  $E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность исследуемой пробы,  $C_{\text{ст}}$  – концентрация альбумина в стандартной пробе,  $E_{\text{ст}}$  – оптическая плотность стандартной пробы.

Нормальная концентрация альбумина крови – 30 – 50 г /л.

#### **2.2.4. Метод определения концентрации глюкозы**

Для исследования концентрации глюкозы брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Материал для исследования может изыматься до пяти суток после наступления смерти, если нет видимых гнилостных изменений. Метод основан на том, что происходит окисление  $\beta$ -D-глюкозы кислородом воздуха при каталитическом действии глюкозооксидазы с образованием эквиволярного количества перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет 4-аминоантипирин в присутствии фенола в окрашенное соединение розово-малинового цвета, определяемое спектрофотометрически. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации глюкозы в крови. [20]

Готовили разведения в соответствии с таблицей:

|            | проба, мкл | калибр. р-р, мкл | контроль, мкл |
|------------|------------|------------------|---------------|
| Перхлорат  | 500        | 500              | 500           |
| Дист. вода | —          | —                | 50            |
| Кровь      | 50         | —                | —             |
| Стандарт   | —          | 50               | —             |

После 10-минутной инкубации центрифугировали пробы 5 мин при 3 тыс. об. Ход анализа:

|              | проба, мкл | калибр.проба, мкл | контроль, мкл |
|--------------|------------|-------------------|---------------|
| Супернатант  | 100        | —                 | —             |
| Контрол. р-р | —          | —                 | 100           |
| Реагент      | 2000       | 2000              | 2000          |
| Калибр. р-р  | —          | 100               | —             |

Реакционную смесь тщательно перемешивали и инкубировали не менее 10 мин при 37<sup>0</sup> С или 15–20 мин при комнатной температуре 20–25<sup>0</sup> С. После инкубации пробы охлаждали. Затем измеряли оптическую плотность опытной и калибровочной проб против контрольной пробы в кюветах с толщиной поглощающего слоя 0.5 см при длине волны 510 нм на КФК–3. Окраска стабильна не менее часа после окончания инкубации при предохранении от солнечного света.

Расчет концентрации глюкозы производили по формуле:

$$C = (D_0 / D_{cn}) \times 10$$

где D<sub>0</sub> – оптическая плотность исследуемой пробы, D<sub>cn</sub> – оптическая плотность стандартной пробы.

Нормальная концентрация глюкозы крови – 1,5-3,5 ммоль/л.

#### **2.2.5. Метод определения уровня креатинина (с использованием набора креатинин 100 (Lachema))**

Для исследования уровня креатинина брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Метод основан на том, что в щелочной среде пикриновая кислота взаимодействует с креатином с образованием оранжево-красной окраски, которую измеряют фотометрически. Определение в сыворотке производят после депротеинизации крови. [18]

Стандартный раствор креатинина 0,177 ммоль/л приготавливали смешиванием 4 мл реактива №1 и 6 мл реактива №2. Готовили разведения в соответствии с таблицей:

| (мл)     | проба | контроль | стандарт |
|----------|-------|----------|----------|
| Кровь    | 1     | –        | –        |
| Вода     | 2     | 3        | 2        |
| Стандарт | –     | –        | 1        |
| ТХУ      | 1     | 1        | 1        |

Перемешивали и отцентрифугировали в течении 10 минут при 3 тыс. об.

| Отмерить (мл)     | проба | контроль | стандарт |
|-------------------|-------|----------|----------|
| Супернатант       | 2     | 2        | 2        |
| Пикриновая к-та   | 1     | 1        | 1        |
| Натрия гидроокись | 1     | 1        | 1        |

Пробы перемешивали и через 20 мин измеряли оптическую плотность каждого образца ( $A_{оп}$ ) и стандарта ( $A_{контр}$ ) против контрольного раствора при длине волны 500-510 нм, в кюветах 1 см, при температуре от +15 до +25 0 С. Расчет производили по формуле:

$$C_{креат} = 0.177 \times (A_{оп} / A_{контр})$$

где  $A_{\text{оп}}$  – оптическая плотность исследуемой пробы,  $A_{\text{контр}}$  – оптическая плотность стандартной пробы.

Нормальная концентрация креатинина крови – 0,15 – 0,22 ммоль /л.

### 2.2.6. Метод определения уровня мочевины (с использованием набора мочевины 450 (Lachema))

Для исследования уровня мочевины брали кровь из бедренной вены. Материал для исследования может изыматься до пяти суток после наступления смерти если нет видимых гнилостных изменений. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Метод основан на том, что мочевина образует с диацетилмонооксимом в сильноокислой среде в присутствии тиосемикарбазида и ионов трехвалентного железа красный комплекс. [19]

|            | проба   | стандартный раствор |
|------------|---------|---------------------|
| Кровь      | 50 мкл  | –                   |
| Стандарт   | –       | 50 мкл              |
| Дист. вода | –       | –                   |
| ТХУ, 5%    | 500 мкл | 500 мкл             |

Центрифугировали в течение 5 минут при 3 тыс. об.

|                 | проба   | стандарт | контроль |
|-----------------|---------|----------|----------|
| Супернатант     | 100 мкл | –        | –        |
| Стандартный р-р | –       | 100 мкл  | –        |
| Дист. вода      | –       | –        | 100 мкл  |
| Рабочий р-р     | 2 мл    | 2 мл     | 2 мл     |

Измерение оптической плотности проб проводили при температуре от +15 до +25 °С в кюветах с длиной оптического пути 5 мм, при длине волны 525 нм. Расчет производится по формуле:

$$C_{\text{мочевины}} (\text{ммоль/л}) = 16.65 \times (D_{\text{опыта}} / D_{\text{контроля}})$$

Нормальная концентрация креатинина крови – 3– 8 ммоль /л.

### 2.2.7. Метод определения активности аспаратаминотрансферазы

Для исследования уровня креатинина брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Активность аспаратаминотрансферазы определяли фотометрически методом Райтмана – Френкеля. Метод основан на том, что оксалоацетат, образованный при переаминировании L–аспартата и α–кетоглутаровой кислоты, в щелочной среде превращается в пируват. Последний, реагируя с 2,4–динитрофенилгидразином образует гидразонпирувата. [91]

В стеклянные пробирки вносили по 0,25 мл субстратного раствора. Для определения активности аспаратаминотрансферазы в качестве субстрата использовали раствор L–аспартата и α–кетоглутаровой кислоты в 100 мМ фосфатном буфере, pH 7,4.

В опытные пробирки вносили по 50 мкл ферментного препарата, в контрольные пробы ферментный препарат добавляли после остановки реакции. Пробы инкубировали 30 мин при температуре 37°C. Реакцию останавливали добавлением 0,25 мл 2,4–динитрофенилгидразина. Пробы оставляли при комнатной температуре на 15-20 мин. Затем во все пробы приливали по 2,5 мл 0,4 М NaOH и выдерживали 10 мин при комнатной температуре для развития окраски. Оптическую плотность измеряли на фотоэлектроколориметре при  $\lambda=540\text{нм}$ .

Нормальная концентрация АСТ крови – 0,66 мкат/л.

### **2.2.8. Метод определения активности аланинаминотрансферазы**

Для исследования уровня креатинина брали кровь из бедренной вены. Сыворотку крови получали центрифугированием при 4000g в течение 15 мин. Активность аланинаминотрансферазы определяли фотометрически методом Райтмана – Френкеля. Метод основан на том, что пируват, образуется в щелочной среде непосредственно при переаминировании L- $\alpha$ -аланина и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты. Пируват, реагируя с 2,4-динитрофенилгидразином образует гидразонпирувата. [91]

В стеклянные пробирки вносили по 0,25 мл субстратного раствора. Для определения активности аланинаминотрансферазы в качестве субстрата использовали раствор L- $\alpha$ -аланина и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты в 100 мМ фосфатном буфере, pH 7,4.

В опытные пробирки вносили по 50 мкл ферментного препарата, в контрольные пробы ферментный препарат добавляли после остановки реакции. Пробы инкубировали 30 мин при температуре 37°C. Реакцию останавливали добавлением 0,25 мл 2,4-динитрофенилгидразина. Пробы оставляли при комнатной температуре на 15-20 мин. Затем во все пробы приливали по 2,5 мл 0,4 М NaOH и выдерживали 10 мин при комнатной температуре для развития окраски. Оптическую плотность измеряли на фотоэлектроколориметре при  $\lambda=540\text{nm}$ .

Нормальная концентрация АЛТ крови – 0,63 мкат/л.

### **2.3. Статистическая обработка результатов исследования**

Для каждой выборки данных оценивали следующие показатели: средняя арифметическая величина  $M$ , стандартная ошибка  $m$ ,  $t$  – критерий Стьюдента. Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ: Microsoft Excel 2010.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1 Исследование изменений уровня биохимических тестов интоксикации организма человека при ХОБЛ

Исследованы изменения уровня молекул средней массы, креатинина, мочевины, глюкозы, общего белка и альбумина, а также изменения активности аминотрансфераз в сыворотке крови трупов людей, как показателей эндогенной интоксикации при ХОБЛ. Результаты исследования приведены в таблице 1.

*Таблица 1.*

*Изменение уровней биохимических тестов интоксикации при ХОБЛ в разных возрастных группах. ( $M \pm m$ ,  $n=18$ )*

| Измеряемые показатели | Возрастные группы   |                     |                    |
|-----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
|                       | От 18 лет до 35 лет | От 36 лет до 55 лет | От 56 лет и старше |
| МСМ, ед.опт.плотн.    | 1,35±0,09           | 1,41±0,1            | 1,62±0,09          |
| Общий белок, мг/л     | 0,6±0,03            | 0,51±0,02           | 0,46±0,04          |
| Альбумин, мг/л        | 0,24±0,01           | 0,17±0,03           | 0,13±0,06          |
| Креатинин, ммоль/л    | 0,31±0,03           | 0,34±0,03           | 0,38±0,01          |
| Мочевина, ммоль/л     | 16,1±0,03           | 24,5±0,03           | 29,8±0,01          |
| Глюкоза, ммоль/л      | 4,6±0,06            | 6,2±0,05            | 6,9±0,01           |
| АЛТ, мкат/л           | 1,36±0,02           | 1,43±0,01           | 1,48±0,01          |
| АСТ, мкат/л           | 1,57±0,04           | 1,64±0,03           | 1,7±0,02           |

На рисунках 1 и 2 показано сопоставление уровней биохимических тестов интоксикации при ХОБЛ в разных возрастных группах.

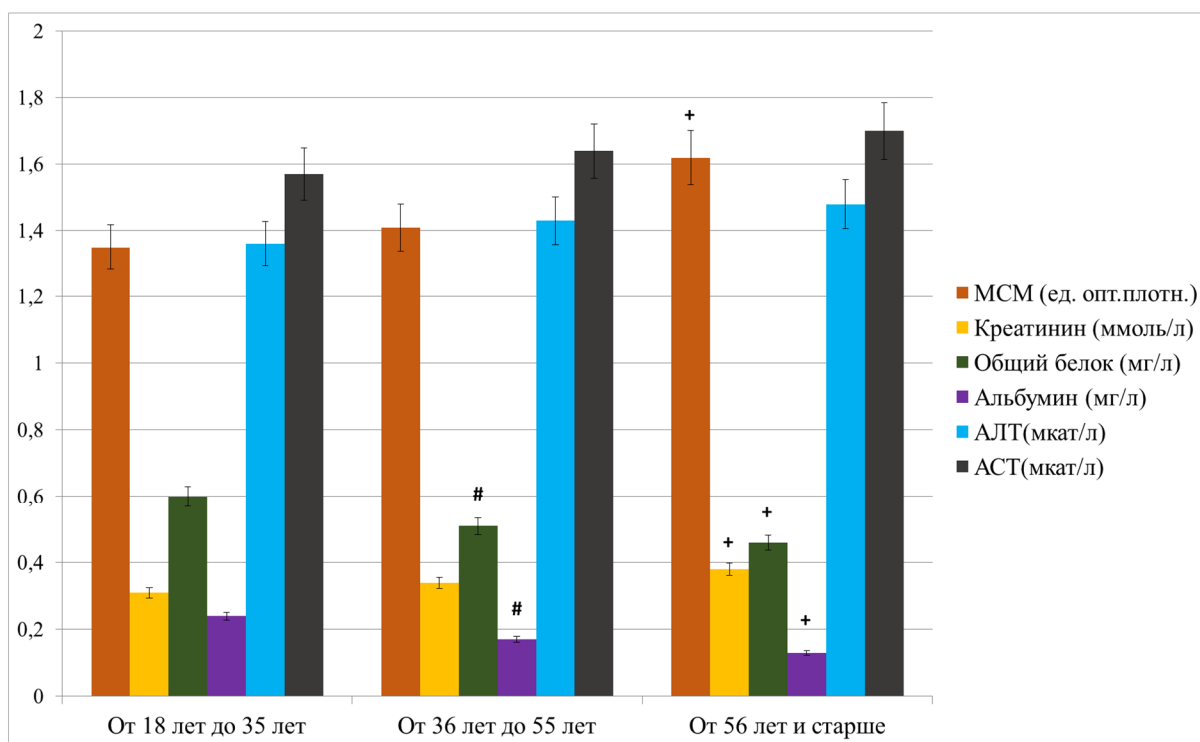


*Рис. 1. Изменение уровней биохимических тестов интоксикации при ХОБЛ в разных возрастных группах ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Уровень молекул средней массы у умерших от ХОБЛ достоверно повышен, особенно высокие его значения характерны для группы 3. Выраженные изменения уровня данного показателя относительно нормы, особенно у лиц, умерших в пожилом возрасте, вероятно, связаны с усиленной активацией процессов катаболизма и усилением реакций эндогенной интоксикации в организме.

При этом отмечается снижение уровней общего белка и альбумина в сыворотке крови трупов, что может служить показателем нарушений процессов антиоксидантной системы крови в условиях эндогенной интоксикации. Данные показатели изменяются в зависимости от возраста умерших, самые высокие значения характерны для группы 1.

Известно, что патологические процессы, происходящие в организме, протекают на фоне нарушений белкового, углеводного и липидного звеньев метаболизма, что можно проследить на диаграмме по изменению

концентрации креатинина и активности аминотрансфераз, особенно выраженных для 2 и 3 групп.

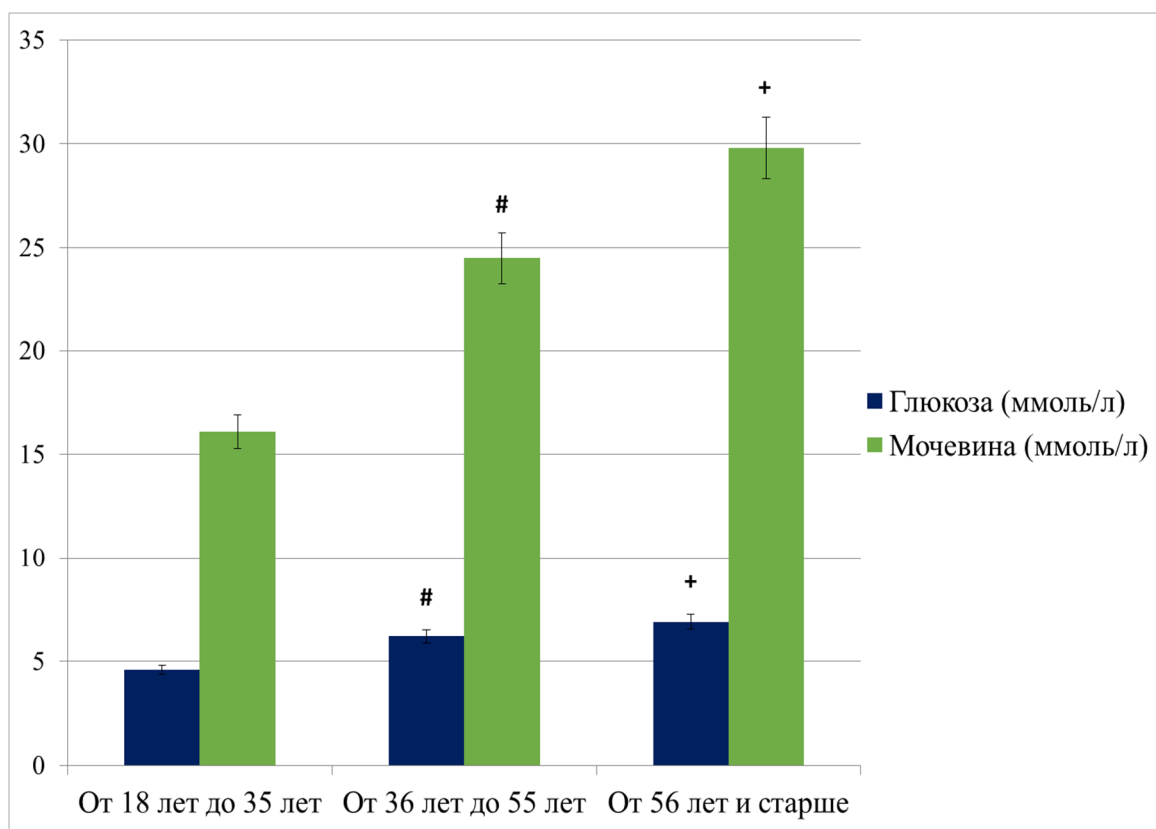


*Рис. 2. Изменение уровней биохимических тестов интоксикации при ХОБЛ в разных возрастных группах ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Показано, что уровень мочевины в сыворотке крови трупов, умерших от ХОБЛ повышается. Наиболее высокий уровень данного показателя характерен для 2 и 3 групп, что, вероятно, связано с активацией процессов протеолиза в легких и является одной из причин развития данной патологии.

Также наблюдается изменения в концентрации глюкозы в сыворотке крови трупов. Увеличение уровня данного показателя ярко выражено, как для 2 группы, так и для 3 группы. Такие изменения вызваны, по – видимому, сопряжением активации реакций окислительного стресса и метаболического синдрома, а также общности их патофизиологических проявлений при ХОБЛ.

### 3.2 Исследование изменений уровня биохимических тестов интоксикации организма человека при пневмонии

Исследованы изменения уровня молекул средней массы, креатинина, мочевины, глюкозы, общего белка и альбумина, а также изменения активности аминотрансфераз в сыворотке крови трупов людей, как показателей эндогенной интоксикации при пневмонии. Результаты исследования приведены в таблице 2.

*Таблица 2.*

*Изменение уровней биохимических тестов интоксикации при  
пневмонии в разных возрастных группах. ( $M \pm m$ ,  $n=18$ )*

| Измеряемые<br>показатели | Возрастные группы      |                        |                       |
|--------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
|                          | От 18 лет до 35<br>лет | От 36 лет до 55<br>лет | От 56 лет и<br>старше |
| МСМ, ед. опт.плотн.      | 1,19±0,1               | 1,18±0,06              | 1,42±0,06             |
| Общий белок, мг/л        | 0,69±0,04              | 0,62±0,05              | 0,53±0,02             |
| Альбумин, мг/л           | 0,29±0,01              | 0,2±0,03               | 0,16±0,04             |
| Креатинин, ммоль/л       | 0,26±0,01              | 0,28±0,02              | 0,32±0,01             |
| Мочевина, ммоль/л        | 12,3±0,01              | 20,2±0,02              | 26,7±0,01             |
| Глюкоза, ммоль/л         | 4,1±0,04               | 4,9±0,02               | 5,8±0,02              |
| АЛТ, мкат/л              | 1,34±0,02              | 1,37±0,01              | 1,4±0,01              |
| АСТ, мкат/л              | 1,52±0,03              | 1,57±0,01              | 1,6±0,01              |

На рисунках 3 и 4 показано сопоставление уровней биохимических тестов интоксикации при пневмонии в разных возрастных группах.

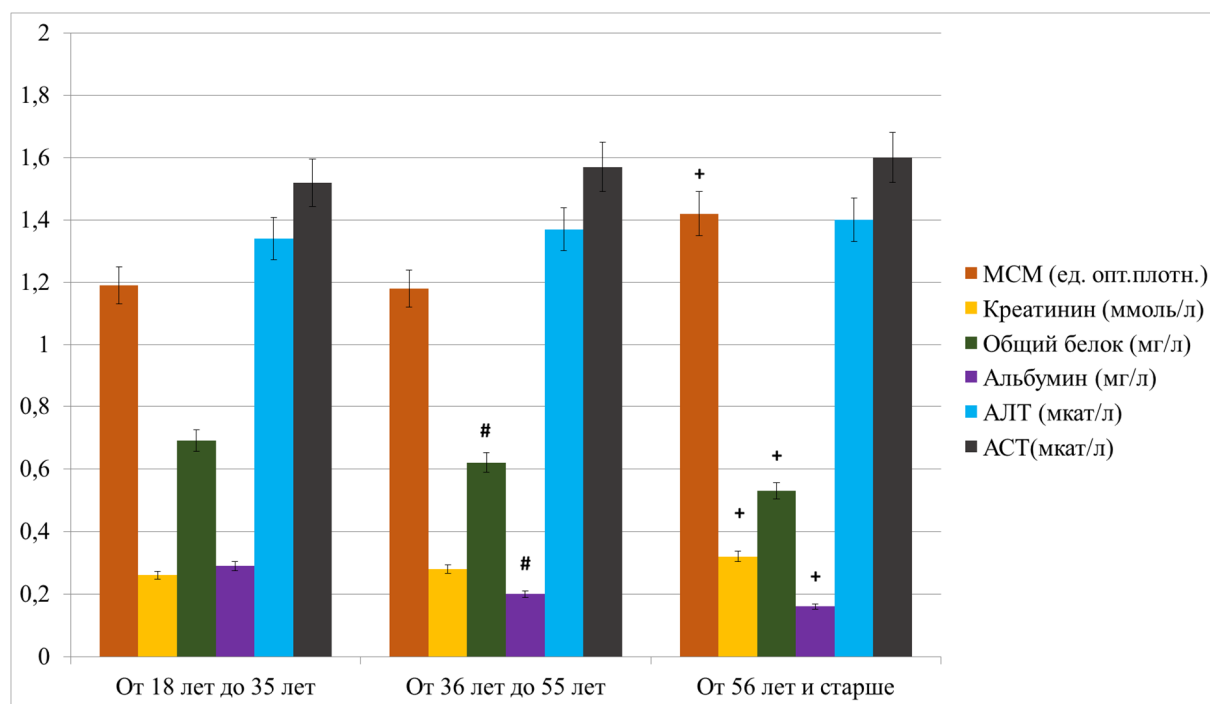


*Рис. 3. Изменение уровней биохимических тестов интоксикации при пневмонии в разных возрастных группах ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Показано, что содержание молекул средней массы в сыворотке крови трупов, умерших от пневмонии повышается, причем наблюдается варьирование уровня данного показателя в разных возрастных группах. Наибольшие значения характерны для группы 3.

Снижение уровней общего белка и альбумина относительно нормальных значений наблюдается у всех возрастных групп, в особенности низкие его значения показаны в группах 2 и 3.

Также наблюдается достоверное увеличение уровня креатинина и активности аминотрансфераз в сыворотке крови трупов. Причем разница в показателях АЛТ и АСТ свидетельствует о специфичности последних при патологиях респираторной системы, что прослеживается во всех возрастных группах при обеих патологиях.

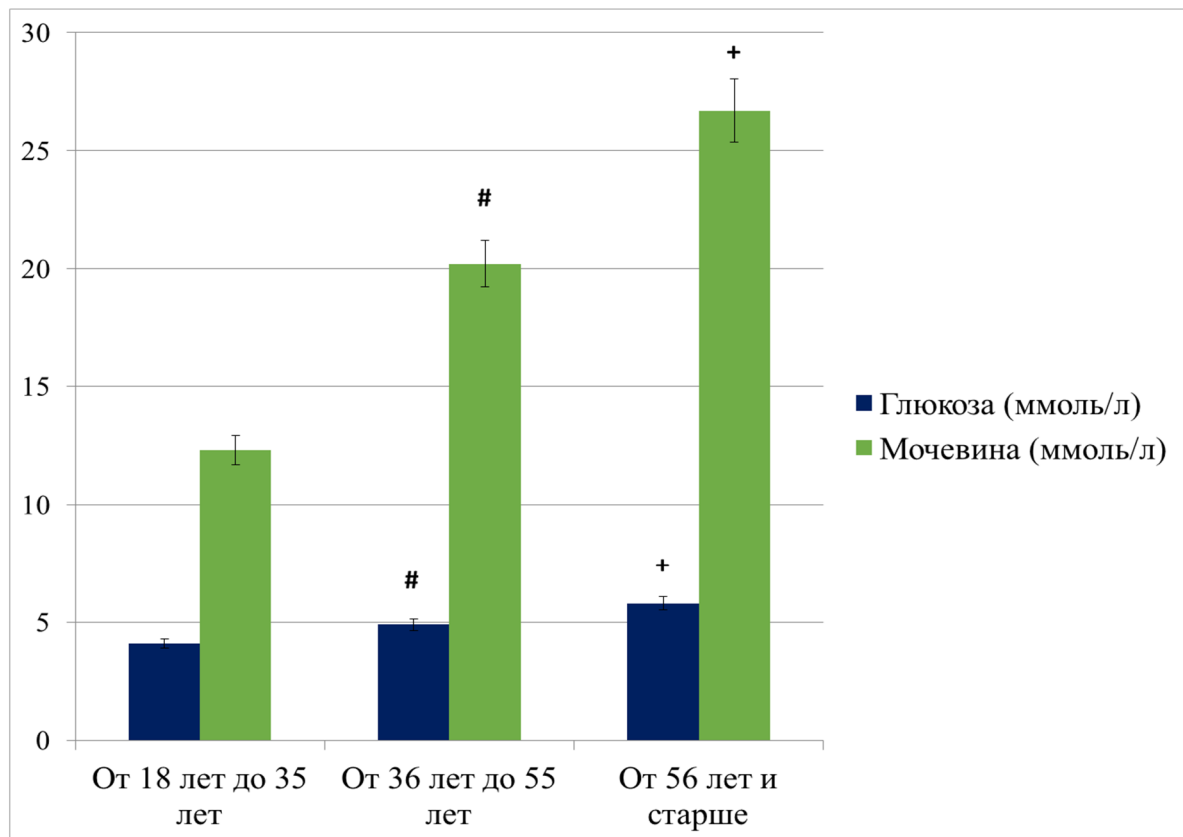


*Рис. 4. Изменение уровней биохимических тестов интоксикации при пневмонии в разных возрастных группах ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Наблюдается увеличение уровня мочевины в сыворотке крови трупов, умерших от пневмонии, особенно высокие значения данного показателя, выделяются для 2 и 3 групп. По – видимому, такие изменения происходят за счет увеличения метаболизма белков, как адаптивной реакции организма на процессы воспаления, происходящие в легких и имеющие инфекционную этиологию.

При этом повышение уровня глюкозы также наблюдается во всех возрастных группах. Достоверные изменения в концентрации данного показателя можно проследить в 2 и 3 группах, что свидетельствует о преобладании инфекционных процессов при пневмонии, которые в свою

очередь также являются стрессирующим фактором для организма и провоцируют наблюдаемую гипергликемию.

### 3.3 Исследование изменений уровня молекул средней массы в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии

Изменение уровня молекул средней массы в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 5.

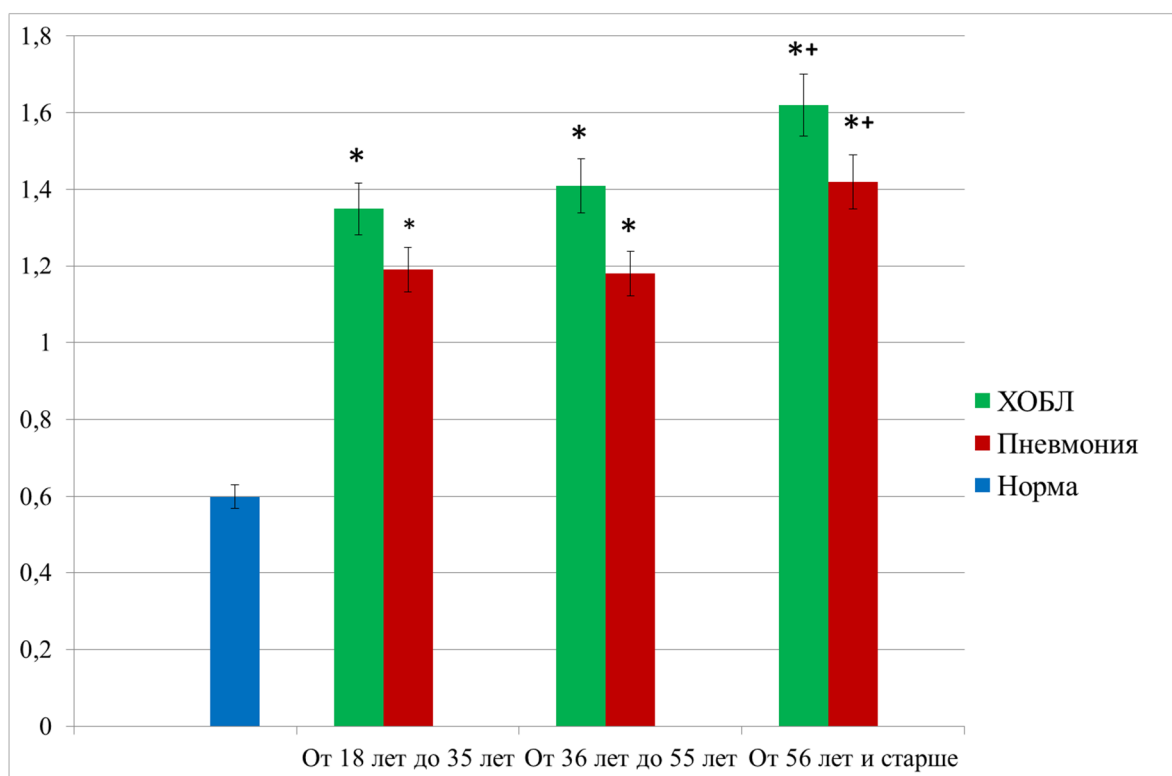


*Рис. 5. Изменение уровня молекул средней массы (ед. опт. плт.) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Из представленной диаграммы видно достоверное повышение уровня молекул средней массы, которое наблюдается как при ХОБЛ, так и при пневмонии во всех возрастных группах, а именно: у умерших от ХОБЛ в группе 1 отмечено повышение данного показателя в 2,25 раза ( $p < 0,01$ )

относительно нормы, в группе 2 в 2,35 раза ( $p<0,01$ ) относительно нормы и в 3 группе в 2,7 раза ( $p<0,01$ ) выше относительно нормы. Чуть ниже данный показатель у умерших от пневмонии: в группе 1 и группе 2 в 1,9 раза ( $p<0,01$ ) уровень молекул средней массы выше относительно показателя нормы, а в группе 3 в 2,3 раза ( $p<0,01$ ). Такие изменения, касающиеся уровня молекул средней массы в сыворотке крови трупов по – видимому, указывают на патогенетические процессы, происходящие в организме при выраженной эндогенной интоксикации.

По данным исследования можно четко проследить достоверное увеличение показателя молекул средней массы при хронической обструктивной болезни легких по сравнению с таковыми показателями при пневмонии. Таким образом, можно сделать вывод о том, что хроническая обструктивная болезнь легких является диффузным процессом, в то время как пневмония ограничена сегментом легких, что и дает более выраженное изменение МСМ в сыворотке крови у умерших от ХОБЛ.

Увеличение уровня молекул средней массы в группе 3 в 1,2 раза ( $p<0,05$ ) относительно группы 1 при ХОБЛ и в группе 3 в 1,1 раза ( $p<0,05$ ) относительно группы 1 при пневмонии, по всей видимости, связано со степенью тяжести данных заболеваний. Так показано, что наличие воспалительных реакции в легких играет особую роль в накоплении МСМ в крови. Так как уровни МСМ в артериальной и венозной крови отличаются, то возможно предположить, что в системе кровотока легких существует шунт, который определяет уровень МСМ как в притекающей к легким крови, так и оттекающей.

Таким образом, можно сделать вывод, что легкие, участвуя в удалении МСМ из кровотока, выполняют детоксицирующую функцию, которая играет важную роль при защите организма от разрушительных реакций эндогенной интоксикации.

### 3.4 Исследование изменений уровня общего белка в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии

Изменение уровня общего белка в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 6.

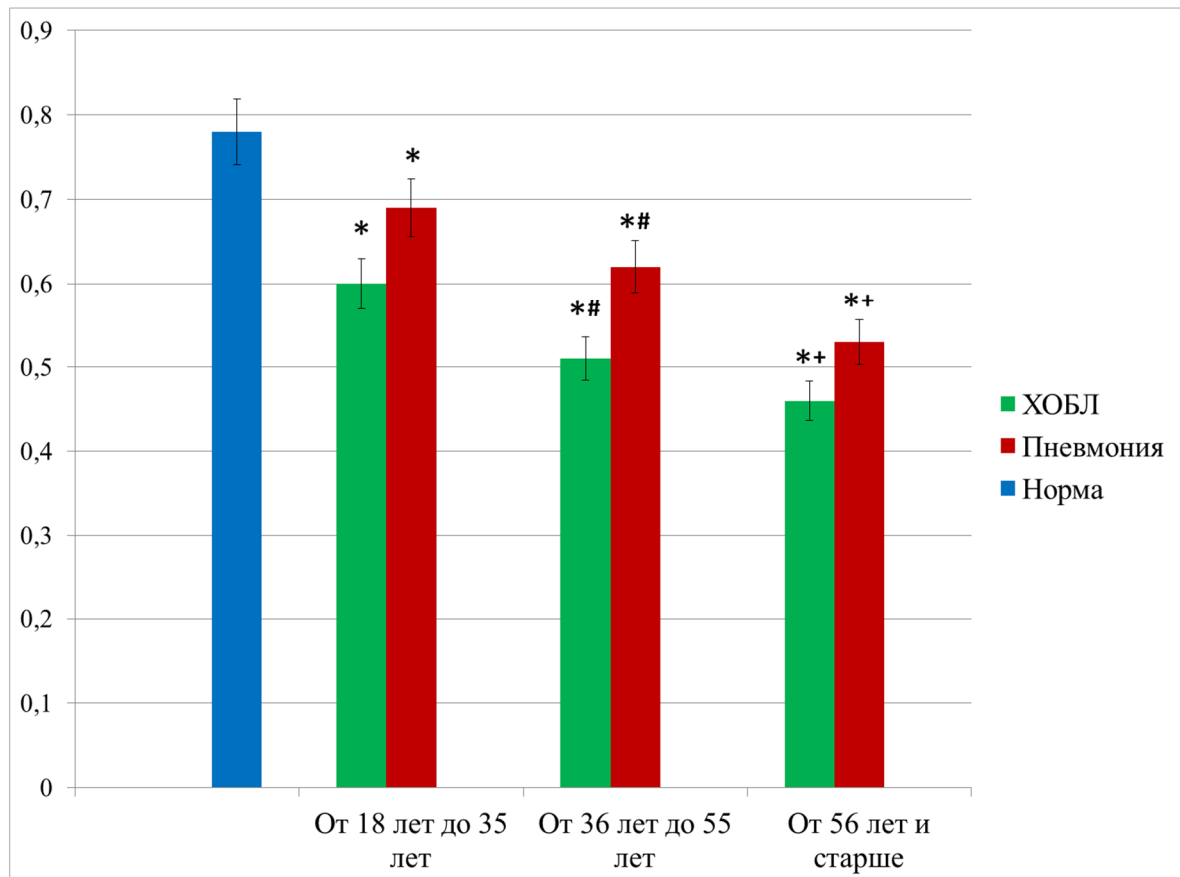


*Рис. 6. Изменение уровня общего белка (мг/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ).  
Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы, # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Уровень общего белка в сыворотке крови трупов достоверно снижается по отношению к нормальным значениям данного показателя у всех возрастных групп, при ХОБЛ уменьшение в группе 1 в 1,3 раза ( $p < 0,01$ ) по отношению к норме, в группе 2 в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ) и в группе 3 в 1,7 раза

( $p < 0,01$ ). При пневмонии уровень данного показателя снижается в группе 1 в 1,1 раза ( $p < 0,01$ ) по отношению к норме, в группе 2 в 1,25 раза ( $p < 0,01$ ), в группе 3 в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ). По – видимому, такое снижение уровня общего белка происходит за счет развития патологических процессов в легких, для которых, прежде всего, характерно направленное повреждение субклеточных структур вплоть до некроза клетки, а также с морфологическая перестройка белков, ферментов и метаболитов в органе дыхания.

Можно сделать вывод, что изменение уровня общего белка в сыворотке крови трупов, умерших от пневмонии, по – видимому, зависит от уровня активации компенсаторных реакций организма, которые, в свою очередь, вызывают привлечение в органы дыхания острофазных белков. Последние являются маркерами воспалительного процесса, а также способствуют локализации микроорганизмов – возбудителей в области заражения и препятствуют попаданию их в кровоток.

Также снижение данного показателя у умерших от ХОБЛ, в группе 2 в 1,17 раза ( $p < 0,05$ ) относительно группы 1 и в группе 3 в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) относительно группы 1, вероятно, может быть вызвано активацией процессов окислительного стресса, при котором наблюдается разрушение молекул белка оксидантами.

### **3.5 Исследование изменений уровня альбумина в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии**

Изменение уровня альбумина в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 7.

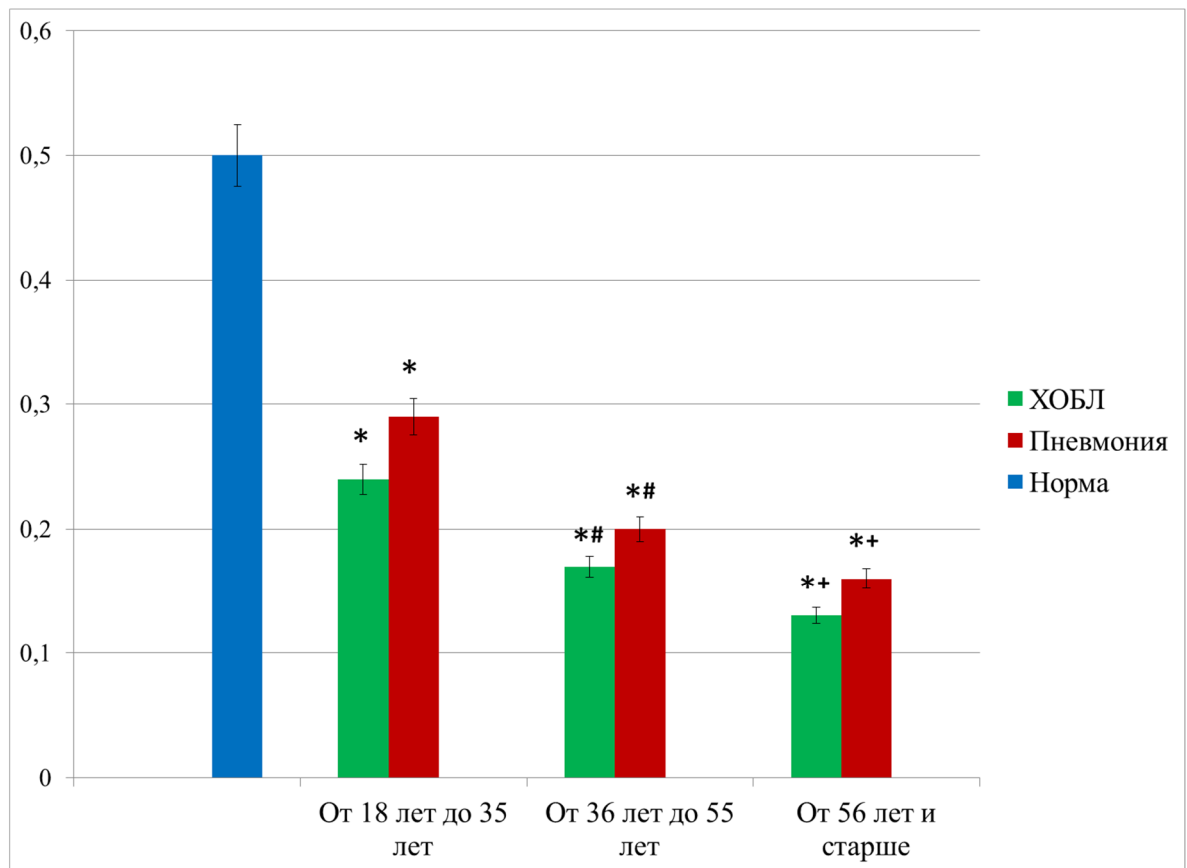


Рис. 7. Изменение уровня альбумина (мг/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы, # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.

При анализе диаграммы было показано, что у умерших от пневмонии и ХОБЛ было достоверное уменьшение количества альбуминов, относительно показаний нормы. При ХОБЛ снижение данного показателя наблюдалось в группе 1 в 2 раза ( $p < 0,01$ ) по отношению к показателю нормы, в группе 2 в 2,9 раза ( $p < 0,01$ ), а в группе 3 в 3,8 раза ( $p < 0,01$ ). При пневмонии снижение уровня альбумина было в группе 1 в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ) относительно нормы, в группе 2 в 2,5 раза ( $p < 0,01$ ) и в группе 3 в 3 раза ( $p < 0,01$ ).

По – видимому, это связано с тем, что при запуске механизмов развития эндогенной интоксикации на фоне патологических процессов в легких, происходит увеличение выхода эндотоксинов в кровь, прежде всего за счет мембранотоксичности клеток. Активация каскада таких реакций приводит к

образованию избытка токсинов в кровотоке, что способствует нарушению не только транспортной способности альбумина, но и подавлению процессов детоксикации.

Можно отметить, что при пневмонии наблюдается достоверное снижение уровня альбумина в группе 3 в 1,8 раза ( $p<0,05$ ) относительно группы 1, а также в группе 2 в 1,5 раза ( $p<0,05$ ) относительно группы 1. При ХОБЛ также наблюдается снижение уровня данного показателя в 1,8 раз у группы 3 по отношению к группе 1 и в 1,4 раза ( $p<0,05$ ) в группе 2 по отношению к группе 1. По – видимому, такая выраженность изменений уровня альбумина отражает нарушения в антипротеазной активности организма, которые способствуют усилению воспалительного процесса.

Таким образом, за счет торможения реакций ингибирования протеаз происходит ухудшение симптомов дыхательной недостаточности легких, деструкция ткани легких, активация воспалительного ответа, а также развитие эмфиземы и пневмофиброза. Такие изменения являются основой для прогрессирования патологических процессов при ХОБЛ и пневмонии с возрастом. Следует отметить, что более выраженные изменения уровня альбумина характерны для умерших от пневмонии, вероятно, такие показатели можно объяснить нарушениями процессов гуморального иммунитета, которые выполняют защитные функции при бактериальной инвазии альвеол, характерной для данного заболевания.

### **3.6 Исследование изменений уровня глюкозы в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии**

Изменение уровня глюкозы в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 8.

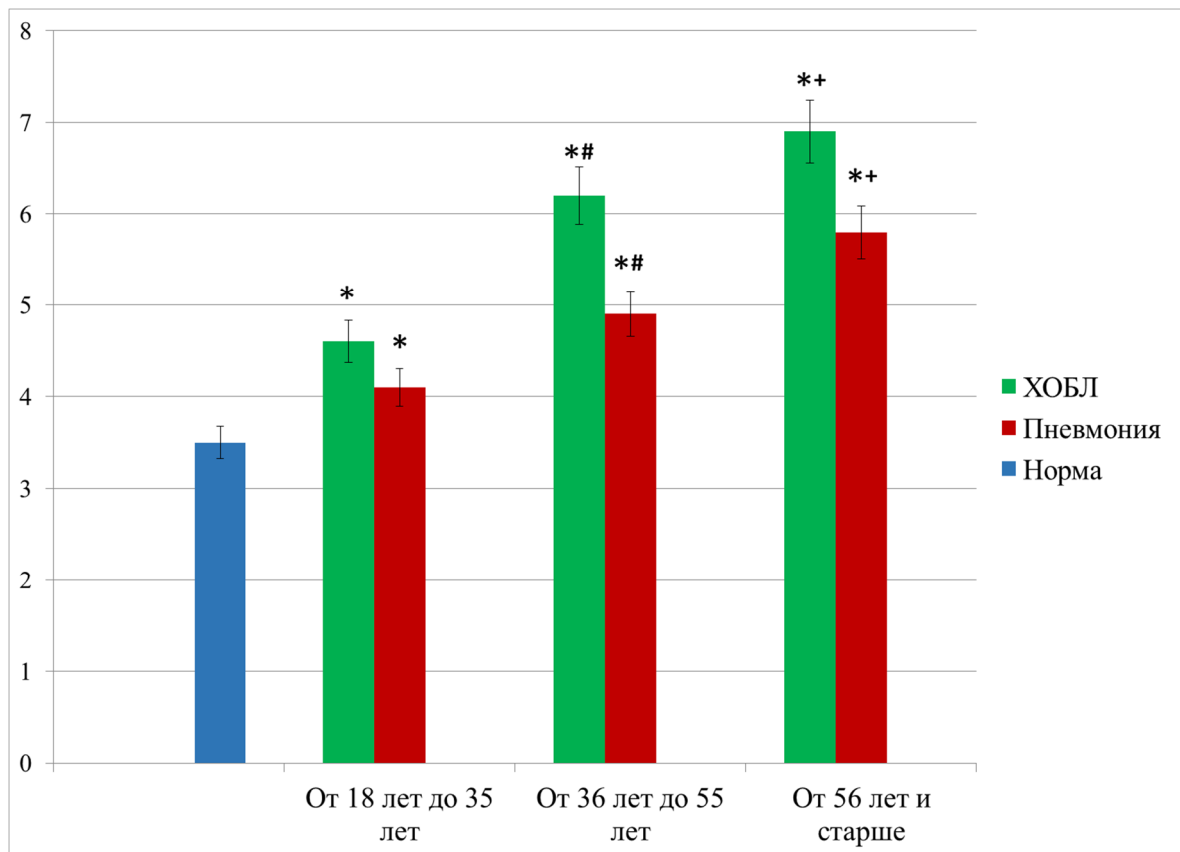


*Рис. 8. Изменение уровня глюкозы (ммоль/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы, # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Уровень глюкозы у умерших от ХОБЛ и пневмонии у разных возрастных групп повышен относительно нормальных значений данного показателя. При ХОБЛ наблюдается достоверное повышение данного параметра в 1,31 раза ( $p < 0,01$ ) в группе 1 по сравнению с нормой, в 1,77 раза ( $p < 0,01$ ) в группе 2 и в 1,97 раза ( $p < 0,01$ ) в группе 3. У умерших от пневмонии также наблюдается выраженное повышение уровня глюкозы – в группе 1 в 1,17 раза ( $p < 0,01$ ) относительно нормы, в группе 2 в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) и в группе 3 в 1,65 раза ( $p < 0,01$ ).

Можно предположить, что такие изменения уровня данного показателя связаны с запуском адаптационных реакций организма, за счет стрессового воздействия, вызванного воспалительным процессом в легких. При этом

воспалительные реакции, в свою очередь, вызывают нарушение трофики легочной ткани, что приводит к недостаточной оксигенации легких.

Исходя из этого, можно предположить, что прогрессирующие процессы гипоксии способствуют развитию гипоэнергетического состояния организма, при котором наблюдается стимуляция анаэробного окисления. Последнее, по – видимому, индуцировано активацией процессов гликолиза, глюконеогенеза и гликогенолиза, что и проявляется в выраженном повышении уровня глюкозы в сыворотке крови трупов.

### **3.7 Исследование изменений уровней креатинина и мочевины в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии**

Изменение уровня креатинина в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 9.

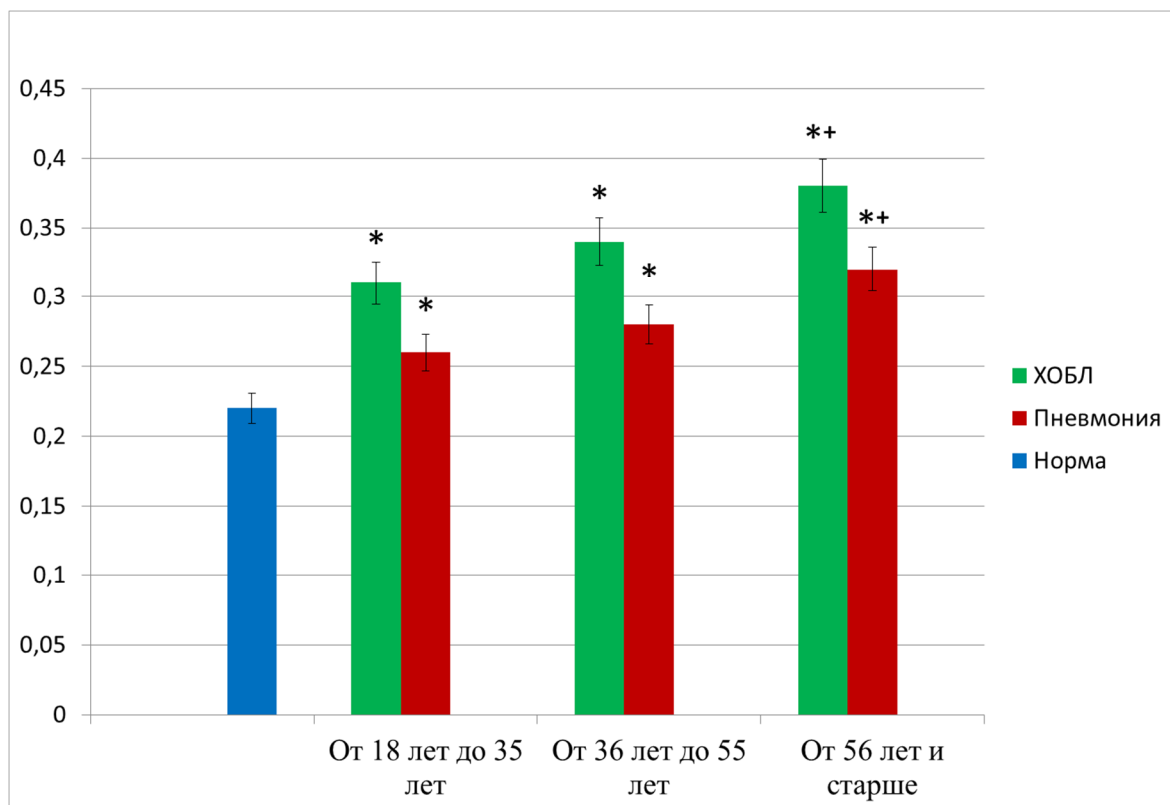


*Рис. 9. Изменение уровня креатинина (ммоль/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm t$ ,  $n=18$ ).  
Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы, + -  $p < 0,05$  относительно группы 1.*

Уровень креатинина достоверно повышен при обеих патологиях у всех возрастных групп. При ХОБЛ уровень данного показателя повышен в группе 1 в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) относительно показаний нормы, в группе 2 в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ) и в группе 3 в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ). При пневмонии уровень креатинина повышен в группе 1 в 1,18 раза ( $p < 0,01$ ) относительно нормальных значений, в группе 2 в 1,2 раза ( $p < 0,01$ ), а в группе 3 в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ).

Изменение уровня мочевины в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 10.

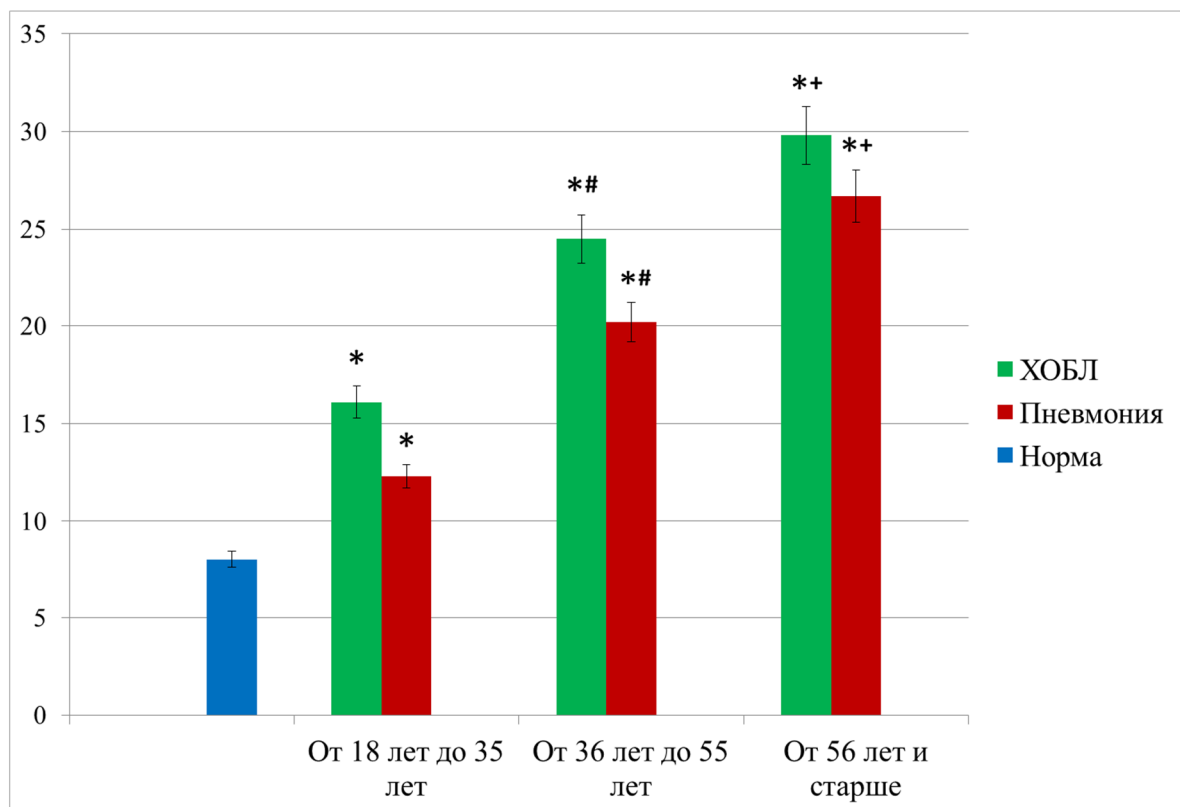


*Рис. 10. Изменение уровня мочевины (ммоль/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm t$ ,  $n=18$ ).  
Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы, # -  $p < 0,05$  группа 2 относительно группы 1, + -  $p < 0,05$  группа 3 относительно группы 1.*

Уровень мочевины у умерших от ХОБЛ и пневмонии у разных возрастных групп достоверно повышен относительно нормальных значений данного показателя. При ХОБЛ наблюдается повышение данного параметра в 2 раза ( $p<0,01$ ) в группе 1 по сравнению с нормой, в 3,1 раза ( $p<0,01$ ) в группе 2 и в 3,7 раза ( $p<0,01$ ) в группе 3. При пневмонии также наблюдается выраженное повышение уровня мочевины – в группе 1 в 1,5 раза ( $p<0,01$ ) относительно нормы, в группе 2 в 2,5 раза ( $p<0,01$ ) и в группе 3 в 3,3 раза ( $p<0,01$ ).

Отмечено, что под действием воспалительных реакций, протекающих в легких, происходит активный выход токсинов в кровоток, которые оказывают разрушающее воздействие на тканевые структуры печени. Такие повреждения печени, как основного детоксицирующего органа, приводят в частности к повышению уровня креатинина и мочевины в сыворотке крови. Такая выраженность изменений концентрации мочевины в крови у разных возрастных групп, вероятно, связана с преобладанием процессов распада белков. Можно предположить, что прогрессирующие реакции катаболизма напрямую связаны со степенью тяжести заболевания и системностью поражения тканей, что подтверждается увеличением уровня мочевины в группе 2 в 1,5 раза ( $p<0,05$ ) относительно группы 1 и в группе 3 в 1,8 раза ( $p<0,05$ ) относительно группы 1, особенно выраженном при ХОБЛ.

Таким образом, наблюдаемая гиперазотемия, вызванная процессами деструкции, под воздействием эндогенных токсинов при ХОБЛ или токсинов микроорганизмов в случае пневмонии, служит одним из неспецифических показателей эндогенной интоксикации организма.

### **3.8 Исследование изменений активности аминотрансфераз в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии**

Изменение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 11.

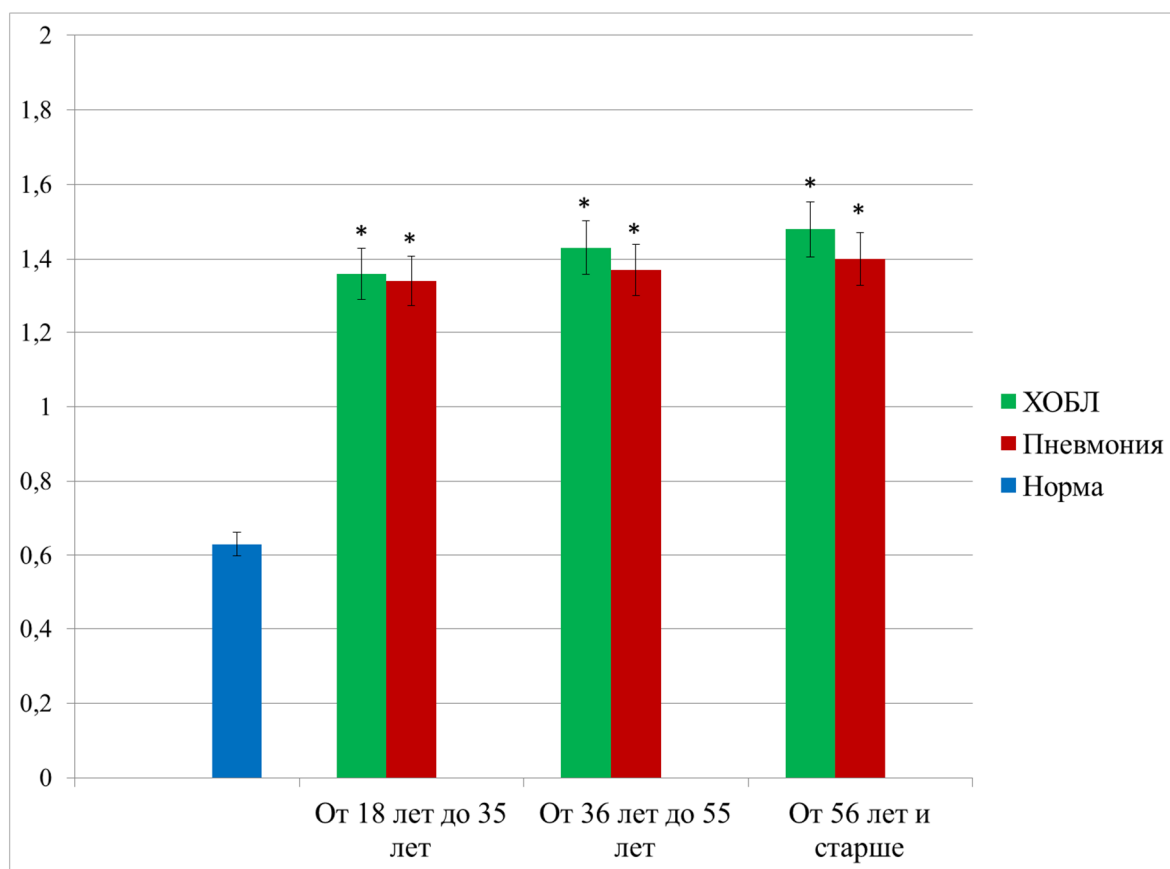


*Рис. 11. Изменение активности аланинаминотрансферазы (мкат/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы.*

Можно отметить достоверное повышение активности АЛТ, которое наблюдается как при ХОБЛ, так и при пневмонии во всех возрастных группах, а именно: у умерших от ХОБЛ в группе 1 и группе 2 отмечено повышение данного показателя в 2,1 раза ( $p < 0,01$ ) относительно нормы, а в 3 группе в 2,25 раза ( $p < 0,01$ ) выше относительно нормы. При пневмонии уровень данного показателя повышается в группе 1 и в группе 2 в 2,1 раза ( $p < 0,01$ ) по отношению к норме и в группе 3 в 2,2 раза ( $p < 0,01$ ).

Изменение активности аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии показаны на рисунке 12.

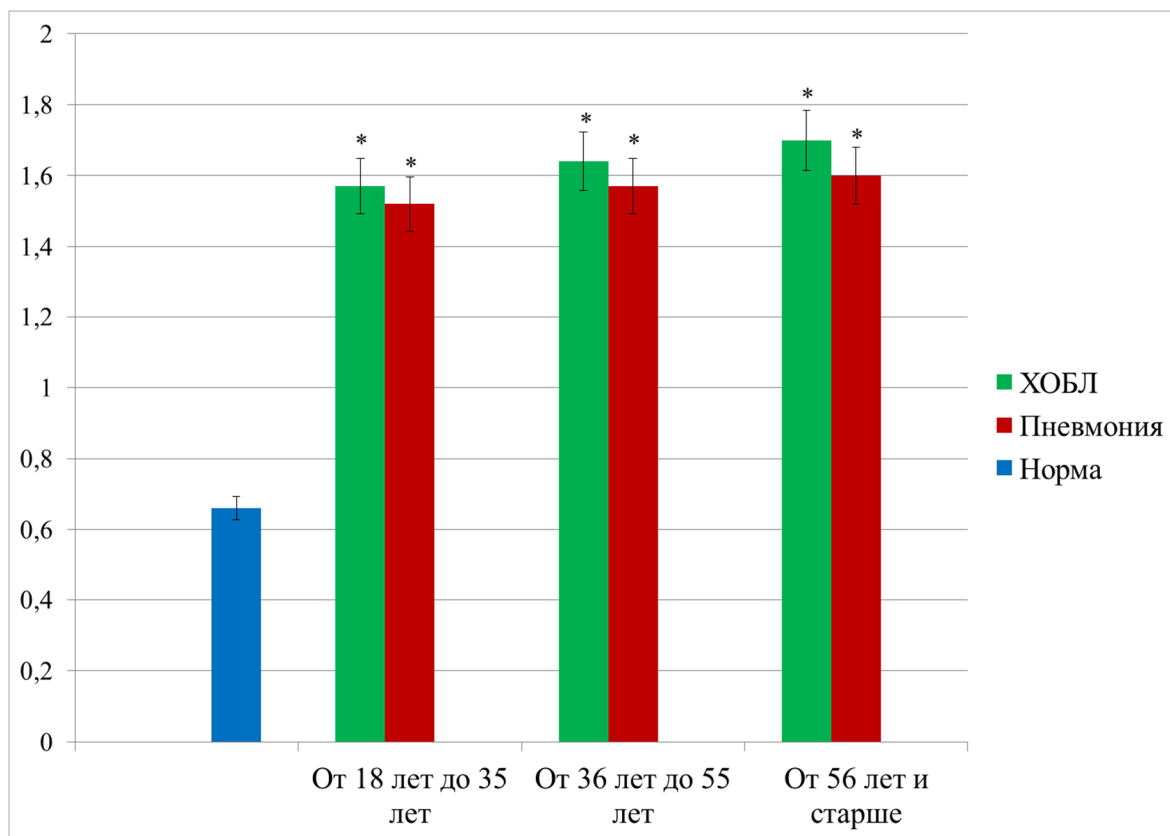


*Рис. 12. Изменение активности аспаратаминотрансферазы (мкат/л) в сыворотке крови трупов разных возрастных групп при ХОБЛ и пневмонии ( $M \pm m$ ,  $n=18$ ). Здесь: \* -  $p < 0,01$  относительно нормы.*

Активность АСТ в сыворотке крови трупов достоверно повышается по отношению к нормальным значениям данного показателя у всех возрастных групп, при ХОБЛ увеличение в группе 1 в 2,3 раза ( $p < 0,01$ ) по отношению к норме, в группе 2 в 2,4 раза ( $p < 0,01$ ) и в группе 3 в 2,5 раза ( $p < 0,01$ ). При пневмонии уровень данного показателя повышается в группе 1 и группе 2 в 2,3 раза ( $p < 0,01$ ) относительно показателя нормы, а в группе 3 в 2,4 раза ( $p < 0,01$ ).

По – видимому, такие изменения активности аминотрансфераз в условиях данных патологий, связаны с изменениями углеводного обмена на

фоне выраженной гипоксии в ткани легких. Такая перестройка направлена на инициацию процессов глюконеогенеза за счет глюкокортикоидов, которые усиливают катаболизм белка и выход аминокислот. Последние вовлекаются в процессы дезаминирования и трансаминирования за счет действия на них цитоплазматического фермента АЛТ, обеспечивающего работу глюкозо – аланинового цикла и митохондриального фермента АСТ.

Можно отметить, что преобладание активности АСТ над АЛТ при обеих патологиях, вероятно, указывает на замедление периферических путей метаболизма, в частности изменений, затрагивающих процессы белкового, углеводного и липидного обменов.

Невозможно оставить без внимания и зависимость повышения активности аминотрансфераз от активации адаптационных процессов, вызванных состоянием стресса организма в условиях эндогенной интоксикации. АСТ и АЛТ работают в зонах пересечения метаболических путей, что важно учитывать при оценке основных биохимических показателей крови под воздействием на организм эндогенной интоксикации, вызванной воспалительными процессами в легких. Количественное отражение компенсаторных сдвигов в сторону защитно – приспособительных реакций и регуляции гомеостаза определяется как адаптивная ферментемия. Это параметр, который отражает не только изменения биохимического состава крови, но является и показателем важнейших клинических синдромов при патологических состояниях, а также объективной характеристикой всего метаболизма.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что, наблюдаемая ферментемия по АСТ у групп 2 и 3 умерших от ХОБЛ напрямую связана как с адаптационными, так и с деструктивными процессами. Последние, в свою очередь, отражаются в нарушении проницаемости мембран клеток легких, что, по всей видимости, можно рассматривать как терминальный цитоллиз, усугубленный как тяжестью заболевания, так и активацией реакций эндогенной интоксикации.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что воспалительные процессы, протекающие в легких, при респираторных заболеваниях осложняются развитием синдромов эндогенной интоксикации. Последние в свою очередь обусловлены комплексным воздействием на организм человека токсинов бактерий, продуктов тканевой деструкции легких, а также биологически активных веществ, избыточное накопление которых происходит за счет нарушения детоксицирующих процессов легких.

Наличие синдрома эндогенной интоксикации проявляется характерными изменениями в клиническо – биохимических показателях крови. Данные параметры указывают на наличие выраженных нарушений метаболизма в условиях активации воспалительных реакций, а также позволяют произвести оценку степени тяжести интоксикации при заболеваниях респираторной системы. Одним из наиболее «чувствительных» параметров, регистрирующих изменения в процессах метаболизма, являются МСМ. Образующиеся при активации процессов протеолиза и ПОЛ, они служат токсическим субстратом, определяющим преобладание реакций эндогенной интоксикации в организме.

Особый интерес в условиях активации реакций эндогенной интоксикации представляет проведение биохимического мониторинга крови, с последующим анализом статистически значимых изменений неспецифических показателей крови. Так в работе были исследованы показатели уровня общего белка, альбумина, глюкозы и креатинина, а также активность трансаминаз сыворотки крови трупов, умерших от ХОБЛ и пневмонии.

Так изменения уровней общего белка и альбумина может отражать наличие структурно – функциональных нарушений клеток, нарушения в функционировании антиоксидантной системы крови, а также снижение защитных механизмов иммунитета. Увеличение показателей уровня глюкозы

и креатинина в сыворотке крови отражают нарушения, которые связаны с перестройкой углеводного обмена на фоне тканевой гипоксии в условиях патологического процесса. Активация каскада таких реакций направлена в сторону катаболизма белков, повышенного синтеза гликогена и усиления процессов глюконеогенеза.

Особый интерес представляет вопрос об изменениях активности аминотрансфераз, так как они определяют содержание аминокислот, участвующих в развитии реакций адаптации, а также регуляции ключевых обменных процессов, происходящих в организме. Было показано, что активность ферментов в сыворотке крови повышалась у всех возрастных групп при обеих патологиях, что, по-видимому, может свидетельствовать о выраженной деструкции мембран клеток и торможении реакций нормализации метаболизма легких на фоне прогрессирующей эндогенной интоксикации.

**Могут быть предложены рекомендации по использованию полученных результатов:**

- В научной деятельности: разработанные критерии интоксикации организма человека при респираторных заболеваниях могут служить основой для дальнейшего изучения механизмов интоксикации, а также оценки степени ее тяжести.
- В педагогической деятельности: разработанные критерии интоксикации организма человека при респираторных заболеваниях можно включить в рассмотрение на лекционных занятиях по следующим дисциплинам: Медицинская биохимия, Молекулярные основы патологических процессов.
- В практической деятельности: в качестве дополнительных биохимических критериев интоксикации организма человека при респираторных заболеваниях рекомендуется оценка в условиях клинических лабораторий следующих биохимических параметров

крови: МСМ, креатинин, мочеви́на, глюкоза, общий белок, альбумин, а также изменения активности аминотрансфераз.

Таким образом, проанализировав выраженность изменений биохимических тестов крови трупов при ХОБЛ и пневмонии, были предложены критерии, позволяющие определять не только наличие воспалительных реакций в легких, но и как следствие активацию процессов эндогенной интоксикации.

## ВЫВОДЫ

1. Анализ биохимических тестов интоксикации организма человека при ХОБЛ позволил разработать критерии интоксикации при данной патологии: наблюдалось повышение уровней молекул средней массы, креатинина, мочевины, глюкозы, а также активности аминотрансфераз относительно нормы. Для данной патологии можно отметить характерное снижение относительно нормы концентрации общего белка и альбуминов в сыворотке крови.
2. Анализ биохимических тестов интоксикации организма человека при пневмонии позволил разработать критерии интоксикации при данной патологии: наблюдалось увеличение уровня молекул средней массы, глюкозы, мочевины, креатинина и увеличение активности аминотрансфераз относительно нормы. Концентрация общего белка и альбуминов в сыворотке крови при данной патологии была снижена относительно нормы.
3. Анализ выраженности изменений биохимических тестов и критериев интоксикации организма человека при ХОБЛ и пневмонии выявил следующее:

3.1. Общими тенденциями при обеих патологиях было: увеличение активности АЛТ у умерших от ХОБЛ и пневмонии в группах 1 и 2 в 2,1 раза относительно нормы, и в 3 группе в 2,2 раза относительно нормальных значений данного показателя. Кроме того, отмечалось увеличение активности АСТ у умерших от ХОБЛ и пневмонии в группах 1 и 2 в 2,3 раза по отношению к норме, и в группе 3 в 2,5 раза и в 2,4 раза соответственно.

3.2. Отличительными особенностями изученных параметров при ХОБЛ, по сравнению с пневмонией, можно считать, изменение уровня следующих показателей: повышение уровня молекул средней массы, ярко выраженное в группе 3 – увеличение в 2,7 раз относительно нормы; повышение уровня глюкозы относительно нормы в группе 2 и группе 3 в 1,77 раз и в 1,97 раз

соответственно; увеличение уровня мочевины – в группе 2 в 3,1 раза и в 3,7 раза в группе 3 в относительно нормы; а также изменение уровня креатинина, ярко выраженное повышение характерно для группы 3 – в 1,7 раз относительно нормы. Кроме того, отмечено достоверное снижение уровней общего белка и альбумина при ХОБЛ, особенно выраженное в группе 3 – в 1,7 раз и в 3,8 раз ниже показателей нормы соответственно.

3.3. Выраженность изменений данных параметров при ХОБЛ, по сравнению с пневмонией, определенным образом связана с развитием на фоне интоксикации воспалительного процесса, а также активацией реакций окислительного стресса и дисбаланса антипротеиназ и протеиназ в органах дыхания. Сопряженность данных процессов не только содействует возникновению нарушений основных звеньев белкового, углеводного и азотистого обменов, но и способствует прогрессированию реакций эндогенной интоксикации организма.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимбаев, Е.А. Легочные нарушения и свободнорадикальное окисление при острых экзогенных отравлениях. / Е.А. Алимбаев, Т.З. Сейсембеков, С.Т. Тусупбаев // 8 национальный конгресс по болезням органов дыхания: сб. резюме. – М.:МГУ, 2008. – С.377.
2. Анаев, Э.Х. Исследование конденсата выдыхаемого воздуха в пульмонологии (обзор зарубежной литературы). / Э.Х. Анаев, А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 2002. – №2. – С.57–66.
3. Белевский, А.С. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2011 г.): пер. с англ. // Российское респираторное общество. – М.:МГУ, 2012. – С.80.
4. Бестужева, С.В. Современное состояние вопроса о сурфактантной системе легких. // Терапевт. – 2005. – №3. – С.50–54.
5. Биличенко Т.Н. Смертность от болезней органов дыхания в 2014–2015 гг. и пути ее снижения. / Т.Н. Биличенко, Е.В. Быстрицкая, А.Г. Чучалин, А.С. Белевский, С.З. Батын // Пульмонология. – 2016. – №4. – С.389–397.
6. Борисов И. М., Крайнюков П. Е., Шаповалова Т. Г., Серговенцев А. А., Борисова М. С. Способ оценки степени тяжести пневмонии. – Патент на изобретение № 2458626. Заявка на патент на изобретение Российской Федерации № 2011109430, приоритет от 11.03.2011, решение о выдаче патента от 20.08.2012, заявитель – Борисов И. М., Крайнюков П. Е., Шаповалова Т. Г., Серговенцев А. А., Борисова М. С.
7. Величковский, Б.Т. Молекулярные и клеточные основы экологической пульмонологии. // Пульмонология. – 2000. – № 3. – С.10–18.

8. Владимиров, Ю.А. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии. / М.М. Созарукова, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2016. – №1. – С.61–67.
9. Габриэлян, Н.И. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. / Н.И. Габриэлян, Э.Р. Левицкий, А.А. Дмитриев // Метод. рекомендации. – М. – 1985. – С.17.
10. Гончарова, Т.А. Особенности пневмоний на фоне наркомании. / Т.А. Гончарова, Г.Л. Игнатова, В.И. Антонов // IX Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сб. резюме. – М.:МГУ – 1999. – С.267.
11. Грызунов, Ю.А. Флюоресцентный способ определения массовой концентрации альбумина сыворотки крови человека. / Ю.А. Грызунов, Ю.И. Миллер, Г.Е. Добрецов, А.Б. Лескова // Клинич. лаб. диагностика. – 1994 – С.27–31.
12. Долгов В.В. Клиническая лабораторная диагностика: Национальное руководство. / В.В. Долгов, В.В. Миньшиков. – М.:Геотар–Медиа, 2012 – 46–58 с.
13. Егоршина, Е.В. Лабораторно–диагностические критерии эндотоксикоза при острых пневмониях и абсцессах легких, хроническом необструктивном бронхите: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Егоршина. – Благовещенск, 2000. – 166 с.
14. Ерохин, В.В. Оценка состояния альвеолярного сурфактанта на стороне развития туберкулезного процесса и в контрлатеральном легком / В.В. Ерохин, Л.Н. Лепеха, О.В. Ловачева // Пульмонология. – 2000. – №1. – С.41–45.
15. Калинина Е. П., Журавская Н. С., Козявина Н. В., Русина Ю. А. Способ лечения хронической обструктивной болезни легких. – Патент на изобретение № 2323728. Заявка на патент на изобретение Российской

Федерации № 2006104800, приоритет от 16.02.2006, решение о выдаче патента от 10.05.2008, заявитель – ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.

16. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х томах. // – Минск, 2000. – Т.1. –495 с.
17. Кинле, А.Ф. Правила забора, хранения, доставки биоматериала для биохимического исследования и трактовки биохимических показателей в судебно-медицинской практике: Методические реком. // – М. – 2007. –С.35.
18. Кинле, А.Ф. Усовершенствованная медицинская технология «Определение креатинина в крови с использованием набора креатинин 100 (Лаксма) по Яффе». / А.Ф. Кинле, О.Г. Асташкина // – М. –2010. – С.3–4.
19. Кинле, А.Ф. Усовершенствованная медицинская технология «Определение мочевины в крови с использованием набора мочевины 450 (Лаксма)». / А.Ф. Кинле, О.Г. Асташкина // – М. –2011. – С.3–4.
20. Кинле, А.Ф. Усовершенствованная медицинская технология «Определение концентрации глюкозы в крови, моче (набор реагентов для определения концентрации глюкозы в крови с депротеинизацией) энзиматическим колориметрическим методом». / А.Ф. Кинле, О.Г. Асташкина // – М. –2011. – С.3–4.
21. Клебанов, Г.И. Антиоксидантная активность сыворотки крови. / Г.И. Клебанов, Ю.О. Телескин, И.В. Бабенкова // Вестн. Рос. Акад. Наук. – 2009. – №2. – С.15–22.
22. Кокосов, А.Н. Хронический бронхит и обструктивная болезнь легких. // – СПб. – 2002. –С.286.
23. Колесникова, А. Ю. Активность аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови крыс при однократном введении Афобазола. / А. Ю. Колесникова, А. С. Байкач, Е. С. Матвеева

- // «Современные тенденции развития науки и технологии». – 2015. – Ч.1. – С.87 – 89.
24. Комар, С.И. Показатели перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха / С.И. Комар, М.Д. Алякринская // XIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сб. резюме. – М.: МГУ, 2003. – С.209.
25. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Издательский центр «Высшая школа», 1990 – 352 с.
26. Лихачева, Н.В. Клиническая энзимология. // Вопр. биолог, мед. и фармацевт, химии. – 2000. – №2. – С.45–52.
27. Лихолат, Е.А. Активность катепсинов при легочных заболеваниях. / Е.А. Лихолат, Е.В. Сулеева, С.С. Панина // 8 Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – М.:МГУ, 2008. – С.343.
28. Малахова, М. Гормональная функция легких / М. Малахова, С. Оболенский, К. Коровин // II Всесоюзный конгресс по болезням органов дыхания: сб. резюме. – 2001. – № 1184. – С.303.
29. Могильницкая, Л.В. Влияние гипоксии на состояние мембран и перекисное окисление липидов в легких и крови крыс. / Л.В. Могильницкая, В.Н. Прокофьев, Фан Ан // Вопр. мед. химии. – 2013. – № 6. – С.34–36.
30. Муравлева, Л.Е. Состояние окислительного метаболизма у больных острыми абсцессами легких и острыми эмпиемами плевры. / Л.Е. Муравлева, Н.У. Танкибаева, Р.Т. Сарсенова // 8 Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – М.:МГУ, 2008. – С.381.
31. Неустроев, Г.В. Новые методы оценки тяжести эндогенной интоксикации у хирургических больных / Г.В. Неустроев, И.В. Ярема, Д.Г. Неустроев // Вестн. хирургии. – 2008. – Т. 157. – №3. – С.30–33.

32. Норейко, С.Б. Пневмония: диагностика и лечение. // Новости медицины и фармации. Тематический выпуск «Антимикробная терапия». – 2011. – № 355. – С.35–42.
33. Овчинникова Ю.Е. Показатели интоксикации в определении активности туберкулезной инфекции у детей. / Ю.Е. Овчинникова, Г.В. Манакова // Пробл. туберкулеза. – 2015. – N5. – С.47–48.
34. Павленко В.И. Способ уточняющей диагностики обострения хронической обструктивной болезни легких. – Патент на изобретение № 2428696. Заявка на патент на изобретение Российской Федерации № 2009136764, приоритет от 05.10.2009, решение о выдаче патента от 10.09.2011, заявитель – Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Амурская государственная медицинская академия РОСЗДРАВА.
35. Постникова, Л.Б. Иммуно–биохимические механизмы системного воспаления в патогенезе хронической обструктивной болезни легких: автореф. дис. ...докт. мед. наук / Л.Б. Постникова. – Н. Новгород, 2005. – 56–73 с.
36. Поташов, Д.А. Перекисное окисление липидов у больных хроническим обструктивным бронхитом, ассоциированным с кишечным дисбактериозом. / Д.А. Поташов, В.А. Винжегина, В.Д. Конвай // 8 Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – М.: МГУ, 2008. – С.381.
37. Романченко Е. А., Калинина Е. П., Журавская Н. С., Кузьмин А. П. Способ оценки тяжести течения пневмонии. – Патент на изобретение № 2294133. Заявка на патент на изобретение Российской Федерации № 2005115279, приоритет от 19.05.2005, решение о выдаче патента от 27.02.2007, заявитель – ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.

38. Румш, Л.Д. Химия протеолиза // Биоорг. химия. – 1994. – № 20. – С.85–99.
39. Самсонов, В.П. Диагностика различных степеней эндотоксикоза при абсцессах легких. (Методические рекомендации). / В.П. Самсонов, М.Т. Луценко, Е.В. Новик // – Благовещенск. – 2008. – С.10.
40. Сильверстов, В.П. Пневмония. // Клиническая медицина. – 2010. – № 2. – С.111–118.
41. Сильверстов, В.П. Хронический бронхит // Клиническая медицина. – 2011. – № 4. – С.105–111.
42. Сильвестров, В.П. Неспецифические заболевания легких: клиника, диагностика, лечение. / В.П. Сильвестров, А.В. Никитин, М.П. Бакулин. – Воронеж. Издательство ВГУ, 2012. – 216 с.
43. Соловьева, Н.И. Протеолитические ферменты и их биологические функции. / Н.И. Соловьева, Ю.А. Елисеева, Л.А. Локшина // Вестник Рос. акад. мед. наук. – 2015. – №2. – С.3–9.
44. Спасс, В.В. Оценка тяжести эндотоксикоза и эффективности детоксикационной терапии. / В.В. Спасс, С.А. Павлович, К.М. Дорохин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – С.7–9.
45. Степаньков, С.С. Состояние антипротеолитической системы крови при остром бронхите. / С.С. Степаньков, А.Ю. Кулиджанов, О.И. Вовк, И.В. Федорчук // 8 Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – М.: МГУ – 2008. – С.344.
46. Титов, В.Н. Интервалы нормы в клинической биохимии. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1995. – №1. – С.1–6.
47. Титова Л. А., Никитин В.А., Васильева Л.В. Способ оценки степени тяжести хронической обструктивной болезни легких. – Патент на изобретение № 2516971. Заявка на патент на изобретение Российской

Федерации № 2012156079, приоритет от 24.12.2012, решение о выдаче патента от 20.05.2014, заявитель – Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко Минздрава России).

- 48.Тупикова, З.А. Антиоксидантная активность различных фракций средних молекул и их элиминация при гемосорбции у обожженных // Эфферентная терапия. – 2007. – № 3. – С.53–56.
- 49.Тупикова, З.А. Среднемолекулярные уремические токсины (обзор литературы) // Вопр. мед. химии. – 2003. – №2. – С.2–10.
- 50.Тыщевский, В.И. Особенности распространенности острых бронхитов и острых пневмоний у взрослых и некоторые факторы их генеза. / В.И. Тыщевский, М.Я. Кондрашова, Е.М. Рязанцева, В.М. Балашова // Проблемы пульмонологии. – 1985. — № 9. – С.26–29.
- 51.Федоров, Б.Б. Абсцессы легких (диагностика и лечение). / Б.Б. Федоров, Г.Л. Воль–Эпштейн, В.И.Струков // Проблемы пульмонологии. – 2006. – №5. – С.24–29.
- 52.Федоровский, Н.М. Связывающая способность альбумина в оценке эндотоксемии. / Н.М. Федоровский, К.С. Каперская, Д.В. Куренков, А.В. Смоляр // Вест. интенсивной терапии. – 2008. – №4. – С.21–23.
- 53.Харьков, А.Л. Эндогенные токсины в хирургии: современные исследования в биологии и медицине. Сообщение II. Диагностика. // Клин. хирургия. – 1997. – № 11. – С.90–93.
- 54.Цыбульский, Э.К. Современные подходы к оценке тяжести состояния и модели предсказания прогноза у больных в педиатрическом отделении

- интенсивной терапии. / Э.К. Цыбульский, М.Д. Иванеев // Международ. мед. обзоры. – 2004. – № 2. – С.312–318.
55. Чучалин, А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких. / – М.: Издательский центр «Стереотип», 2011. – 568 с.
56. Чучалин, А.Г. Пневмония: актуальная проблема современной медицины. / – М.: Издательский центр «Materia Medica», 2015. – 5–10 с.
57. Шано, В.П. Сепсис и (синдром системного воспалительного ответа). / В.П. Шано, А.Н. Нестеренко, Ф.И. Гюльмамедов, П.Ф. Гюльмамедов // Анестезиология и реаниматология. – 2008. – №4. – С.60– 64.
58. Шевченко, Ю.Л. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника: руководство для врачей. // – СПб. Издательский центр «ЭЛБИ», 2000. – 384с.
59. Широхова Н. М., Скурыдин С. В., Симонова А. В., Карабиненко А. А., Сторожаков Г. И. Способ прогнозирования летального исхода у больных внебольничной пневмонией. – Патент на изобретение № 2472155. Заявка на патент на изобретение Российской Федерации № 2011119425, приоритет от 16.05.2011, решение о выдаче патента от 10.01.2013, заявитель – Широхова Н. М., Скурыдин С. В., Симонова А. В., Карабиненко А. А., Сторожаков Г. И.
60. Яковлев, В.Н. Неотложные состояния при острой пневмонии. / В.Н. Яковлев, В.Г. Амисеев // Клин. медицина. – 1989. – №1. – С.30–33.
61. Agusti, A. Characterisation of COPD heterogeneity in the ECLIPSE cohort. / A. Agusti, P.M.A. Calverley, B. Celli // Respir Res. – 2010. – Vol. 11. – P.122–136.
62. Baljit, K. Metabolic profiling detects biomarkers of protein degradation in COPD patients. / K. Baljit, H. R. John, A. S. Paul // Eur Respir J. – 2012. – Vol. 40. – P.345–355.

63. Baracos V.E. Investigations of branched-chain amino acids and their metabolites in animal models of cancer. / V.E. Baracos, M.L. Mackenzie // J Nutri. – 2006. – Vol. 136. P.237–242.
64. Barker, B.L. Phenotyping the heterogeneity of chronic obstructive pulmonary disease. / B.L. Barker, E. Christopher // Clinical Science. – 2013. – Vol. 124. – P.371–387.
65. Barnes, P.J. Chronic obstructive pulmonary disease. // The New England Journal of Medicine. – 2000. – Vol.343 (4). – P.269—280.
66. Brun–Buisson, C. Septic shock. Etiology, physiopathology, diagnosis, treatment. / C. Brun–Buisson, E. Roupie // Rev. Prat. – 1995. – Vol.45. – P.1797–1803.
67. Burgmann, H. Biochemistry, molecular mechanism of action and biological effects of endotoxin. / H. Burgmann, S. Breyer // Wien. Med. Wochenschr. – 1995. – Vol.145. – P.211–217.
68. Caradonna, L. Biological and clinical significance of endotoxemia in the course of hepatitis C virus infection. / L. Caradonna, M.L. Mastronardi, T. Magrone // Curr. Pharm. Des. – 2002. – Vol.8. – P.995–1005.
69. Chitano, P. Effect of oxidant air pollutants on the respiratory system: insights from experimental animal research. / P. Chitano, J.J. Hosselet, C.E. Mapp // Eur. Respir. J. – 1995. – Vol.8. – P.1357–1371.
70. Cundell, D.R. Relationship between colonial morphology and adherence of *Streptococcus pneumoniae*. / D.R. Cundell, J.N. Weiser, J. Shen, A. Young, E.I. Tuomanen. // Infect Immun. – 1995. – Vol.3. – P.57–61.
71. Dehoux, M.S. Compartmentalized cytokine production within the human lung in unilateral pneumonia. / M.S. Dehoux, A. Boutten, J. Ostinelli // Am J. Respir Crit Care Med. – 1994. – Vol.150. – P.710–716

72. Eling, T.E. Pulmonary biosynthesis and metabolism of prostaglandine and related substances. / T.E. Eling, A. Ally // Bull. Europ. Physiopath. resp. –1981. – Vol. 17. – P.611–625.
73. Elkington, P.T. Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology. / P.T. Elkington, J.S. Friedland // Thorax. – 2006. – Vol. 61(3). – P.259–266.
74. Garbino, J. Prospective epidemiologic survey of patients with community-acquired pneumonia requiring hospitalization in Switzerland. / J. Garbino, R. Sommer, A. Gerber // Int. J. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 4. – P. 288–293.
75. Giralt, M. Effect of endotoxin on rat serum, lung and liver lipid peroxidation and on tissue metallothionein levels. / M. Giralt, T. Gasull, A. Blanquez // Rev. Esp. Fisiol. – 2003. – Vol.49. – P.73–78.
76. Gordon, V.M. Proteolytic activation of bacterial toxins: role of bacterial and host cell proteases. / V.M. Gordon, S.H. Leppla // Infect. Immun. – 1994. – Vol.62. – P.333–340.
77. Hammerschlag, M. Pneumoniae due Chlamydia pneumonia in Children: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. // Pediatric Pulmonology –2003. – Vol. 36. – P.384–390.
78. Hardegger, D. Rapid detection of Mycoplasma pneumoniae in clinical samples by real-time PCR. // J. Microbiol. Methods. – 2000. – Vol.41. – P.45–51.
79. Heumann, D. Gram-positive cell walls stimulate synthesis of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 by human monocytes. / D. Heumann, C. Barras, A. Severin, M.P. Glauser, A. Tomasz // Infect Immun . –1994. – Vol. 62. – P.2715– 2721.
80. Juven, T. Clinical profile of serologically diagnosed pneumococcal pneumonia. / T. Juven, J. Mertsola, P. Toikka // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2001. –Vol. 20. – P.1028–1033

81. Khanna, M. The Pneumoplex assays, a multiplex PCR-enzyme hybridization assay that allows simultaneous detection of five organisms, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*, and *Bordetella pertussis*, and its real-time counterpart. / M. Khanna, J. Fan, K. Pehler–Harrington // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol.43. – P.565–571.
82. Kim, S.H. Health-related quality of life in chronic obstructive pulmonary disease patients in Korea. / S.H. Kim, Y.M. Oh, M.W. Jo // *Health Qual Life Outcomes.* – 2014. – Vol.12. – P.57.
83. Knop, M. Vacuolar/lysosomal proteolysis: proteases, substrates, mechanisms. / M. Knop, H.H. Schiffer, S. Rupp et al // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 1993. – Vol.5. – P.990–996.
84. Kos, J. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer (review). / J. Kos, T.T. Lah // *Oncol. Rep.* – 2008. – Vol.5. – P.1349–61.
85. Lee, Y.K. South Korean time trade-off values for EQ-5D health states: modeling with observed values for 101 health states. / Y.K. Lee, H.S. Nam, L.H. Chuang // *Value Health.* – 2009. – Vol.12 (8). P.1187–1193.
86. Matsuura M. The role of cytokines in endotoxin activities. / M. Matsuura // *Nippon. Saikingaku. Zasshi.* – 1995. – Vol.50. – P.435–449.
87. Moussa, K. Phagocyte function and cytokine production in community-acquired pneumonia. / K. Moussa, H.J. Michie, I.A. Cree // *Thorax.* – 2014. – Vol.49. – P.107–111.
88. Owen, C.A. Roles for proteinases in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. // *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* – 2008. – Vol.3 (2). – P.253—268.

89. Puente–Maestu, L. Abnormal mitochondrial function in locomotor and respiratory muscles of COPD patients. / L. Puente–Maestu, J. Perez–Parra, R. Godoy // *Eur Respir J.* – 2009. – Vol.33. – P.1045–1052.
90. Pugin, J, CD14 is a pattern recognition receptor. / J. Pugin, D. Heumann, A. Tomasz et al // *Immunity.* – 2014. – Vol.1. – P.509–516.
91. Reitman, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. / S. Reitman, S. Frankel // *American Journal of Clinical Pathology.* – 1957. – P.28, 56–63.
92. Ruth F. Gill A micro-biuret method for estimating proteins. / F. Ruth, D.M. Itzhaki // *Analytical Biochemistry.* – 1964. – Vol. 9. – P. 401–410.
93. Schols, A.M. Nutritional assessment and therapy in COPD: a European Respiratory Society statement. / A.M. Schols, I.M. Ferreira, F.M. Franssen // *European Respiratory Journal.* – 2014. – Vol.44. – P.1504–1520.
94. Stockley, R.A. Neutrophils and protease/antiprotease imbalance. // *Am J Respir Crit Care Med.* – 1999. – P.49–52.
95. Tom, A. Assessment of branched-chain amino acids and potential for biomarkers. / A. Tom, S. Nair // *J Nutri.* – 2006. – Vol.136. – P.324–330.
96. Wagner, P.D. Possible mechanisms underlying the development of cachexia in COPD. // *Eur Respir J.* – 2008. – Vol. 31. – P.492–501.
97. Watz, H. Effects of indacaterol/glycopyrronium (QVA149) on lung hyperinflation and physical activity in patients with moderate to severe COPD: a randomised, placebo–controlled, crossover study (The MOVE Study) BMC. / H. Watz, C. Mailänder, M. Baier, A. Kirsten // *Pulm. Med.* – 2016. – Vol. 16 (1). – P. 95.

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ**  
**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение**  
**высшего образования**

**ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Факультет  
физико-математических  
и естественных наук

Кафедра  
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки  
06.04.01 Биология  
Магистерская программа «Биохимия  
и молекулярная биология»

Утверждаю:  
Зав. кафедрой  
 Г.А. Карпова  
« 7 » октябре 2016г.

**Задание**

По ВКР студента Мальцевой Анастасии Юрьевны

Тема работы «Биохимические тесты и критерии интоксикации организма  
человека при заболеваниях респираторной системы»

Утверждена приказом по Университету от « 5 » декабре 2016г. № 1171/0

Срок сдачи студентом законченной работы « 22 » мая 2017г.

# КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

| № п/п | Перечень подлежащих разработке вопросов:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Сроки выполнения этапов       | Примечания |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------|
| 1.    | Написание плана работы                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | октябрь 2016                  | Выполнено  |
| 2.    | Написание 1 главы «Обзор литературы»<br>Написание Введения                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | октябрь 2016-<br>январь 2017  | Выполнено  |
| 3.    | Набор материала исследования.<br>Определение клинико-биохимических тестов:<br>—определение уровня молекул средней массы в крови;<br>—определение общего белка и альбумина в крови;<br>—определение мочевины и креатинина в крови;<br>—определение уровня глюкозы в крови;<br>—определение активности аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы в крови.) | октябрь 2016-<br>декабрь 2016 | Выполнено  |
| 4.    | Обработка результатов. Написание 2 главы «Материалы и методы исследования»                                                                                                                                                                                                                                                                                      | январь-<br>февраль 2017       | Выполнено  |
| 5.    | Написание 3 главы «Результаты исследования и их обсуждение»                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | март-апрель 2017              | Выполнено  |
| 6.    | Написание Заключения.<br>Написание Выводов.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | май 2017                      | Выполнено  |
| 7.    | Оформление ВКР. Подготовка к защите доклада                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | май-июнь 2017                 | Выполнено  |

Дата выдачи задания « 7 » сентября 2016 г.

Руководитель  Н.В. Безручко

Задание принял к исполнению 