

*А. В. Любин, К. Г. Шаповалов***СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ЭЛЕКТРОТРАВМЕ**

Аннотация. Целью работы явилось изучение функции эндотелия поврежденного участка сосудистого русла после прохождения электрического тока. У 20 пациентов с электротравмой исследованы некоторые показатели эндотелиальной дисфункции. Содержание в крови циркулирующих эндотелиальных клеток определялось методом проточной цитометрии с помощью аппарата «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, США). Определение нитритов крови осуществлялось непрямой метод (Голиков П. П. и соавт., 2004). Установлено, что при электротравме на 30 % повышалось количество циркулирующих эндотелиальных клеток, в 1,8 раза снижалась продукция нитритов крови. Возрастание количества клеток эндотелия в крови явилось прямым следствием повреждения электрическим током стенки сосудов, что неизбежно сопровождалось развитием эндотелиальной дисфункции. Важным патогенетическим звеном данного процесса являлось снижение продукции и секреции основного вазорегуляторного фактора эндотелиального генеза – оксида азота. Таким образом, воздействие электрического тока вызывало выраженные нарушения функции эндотелия.

Ключевые слова: электротравма, оксид азота, циркулирующие эндотелиальные клетки, эндотелиальная дисфункция.

*A. V. Lyubin, K. G. Shapovalov***ENDOTHELIUM'S STATE IN THE EVENT OF ELECTRICAL INJURY**

Abstract. The purpose of the paper is studying the function of endothelium in the damaged area of a vascular bed after exposure to electric current. The authors have investigated some indicators of endothelial dysfunction in 20 patients with electric trauma. The number of circulating endothelial cells in blood was counted by the method of flowing cytometry by means of «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, the USA) device. Determination of nitrites in blood was carried out by an indirect method (Golikov P. P., et al, 2004). It has been established that in the event of electric injury the quantity of circulating endothelial cells increase by 30 %; the production of nitrites in blood decrease by 1,8 times. Increasing of cells quantity of endothelium in blood appears to be a direct consequence of vessel wall damage by electric current and is inevitably accompanied by the development of endothelial dysfunction. An important pathogenetic part of this process is depression of production and secretion of nitrogen oxide – the major vascular regulatory factor of endothelial genesis. Thus, the influence of electric current caused the determined disturbances of endothelium function.

Key words: electrotrauma, nitric oxide, moving endothelium cells, endothelium dysfunction.

Введение

Электрический ток, входя в тело человека, движется в направлении от одного полюса к другому, распространяясь веерообразно, главным образом по тканям, оказывающим наименьшее сопротивление. Органы и ткани человеческого организма обладают различным сопротивлением. По степени его убывания их можно расположить так: кость, подкожная жировая клетчатка,

сухожилие, кожа, мышца, кровеносный сосуд, нерв [1, 2]. Иначе говоря, электрический ток, преодолев сопротивление кожи и подкожной жировой клетчатки, проходит через более глубоко лежащие ткани параллельными пучками вдоль потоков тканевой жидкости, кровеносных и лимфатических сосудов, оболочек нервных стволов [2–5]. Это обуславливает высокую степень уязвимости кровеносных сосудов при электрической травме [5, 6]. Сообразно с этим проявляются нарушения сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза, ведущие к синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрому), нарушению микроциркуляции.

Эндотелий участвует в регуляции тонуса и атромбогенности стенки сосуда, систем свертывания крови и фибринолиза, ангиогенеза, иммунитета [7, 8]. Поэтому его функциональные изменения могут объяснять патофизиологические изменения в тканях при электротравме. Вместе с тем состояние эндотелиальной секреции вазоактивных веществ и их вклад в регуляцию сосудистого тонуса и микроциркуляции при поражениях электрическим током изучены недостаточно.

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

Цель работы – оценить функцию эндотелия поврежденного участка сосудистого русла по числу циркулирующих эндотелиальных клеток и нитроксидпродуцирующей активности эндотелия.

1. Материалы и методы

Обследовано 15 больных с поражением электрическим током в первые сутки после полученной травмы. В работе с людьми соблюдались этические принципы, предъявляемые ст. 24 Конституции РФ и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2000). Пациенты находились на стационарном лечении в Центре термической травмы городской клинической больницы № 1 г. Читы в период с 2010 по 2012 г. В исследования были включены пострадавшие мужчины от 20 до 40 лет. Средний возраст составил 33 ± 6 лет.

Из исследования исключались пациенты с тяжелой соматической патологией: сахарным диабетом, гипертонической болезнью, ишемической болезнью сердца, облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей, туберкулезом, хроническим алкоголизмом, а также пострадавшие, электротравма у которых осложнилась пневмонией, лимфаденитом и сепсисом. У больных имелись метки тока в области верхних конечностей, при этом общая площадь ожогового поражения не превышала 5 %.

Контрольную группу составили 15 практически здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу.

Исследование содержания в крови циркулирующих эндотелиальных клеток определялось методом проточной цитометрии. Для определения циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) кровь забирали в пробирку Моновет 4,9 мл ЭДТА, содержащую динатриевую соль ЭДТА объемом 2,5 мл, в утренние часы строго натощак. Оценку ЦЭК осуществляли стандартным методом прямого трехпараметрического иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с использованием панели моноклональных антител IOTest (Beckman Coulter, США) CD45-FITC/CD146-PE и витального красите-

ля 7-AAD, коммерческого лизирующего (фиксирующего) раствора OPTI-LYSE C (Beckman Coulter, США). Контрольные пробы инкубировали с иммуноглобулинами, меченными флуорохромами (FITC, PE) соответствующего изотипа, – мышиными IgG1 (Beckman Coulter). Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США), количество ЦЭК регистрировали на 500 000 лейкоцитов. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter, США).

Определение нитритов крови осуществлялось непрямым методом [9]. Пробы сыворотки крови непосредственно перед исследованием размораживали и депротеинизировали добавлением к 0,4 мл сыворотки 0,8 мл 0,5N NaOH и 0,8 мл 10 % раствора сульфата цинка. Содержимое пробирки перемешивали и центрифугировали 15 мин при 9000 g. Надосадочную жидкость смешивали с равным объемом реактива Грисса (1 % сульфаниламид, 0,1 % нафтилендиамина, 2,5 % фосфорная кислота) и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Измерение абсорбции раствора проводили на спектрофотометре при длине волны 546 нм. Концентрацию нитрита определяли с помощью стандарта нитрита натрия.

Полученные данные обработаны с помощью пакета программ Biostat и Microsoft Excel 2003. При сравнении показателей исследуемых групп использовались методы непараметрической статистики в связи с ненормальным распределением значений в вариационных рядах. Числовые данные представлены в виде медианы (*Me*) и интерквартильного интервала с указанием точного значения статистической значимости (*p*). При сравнении двух независимых выборочных совокупностей по одному признаку использовался критерий Манна – Уитни.

2. Результаты и обсуждение

Установлено, что действие электричества сопровождалось повреждением клеток эндотелия, возрастанием их количества в циркулирующей крови. Так, у пораженных электрическим током число ЦЭК в первые сутки с момента травмы увеличивалось на 30 % ($p = 0,033$) в сравнении с группой здоровых людей (табл. 1). При этом количество живых ЦЭК в два раза ниже у пострадавших в сравнении с контролем.

Таблица 1

Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток в крови пострадавших с электротравмой *Me* (25-й процентиль; 75-й процентиль). Критерий Манна – Уитни

Показатели	Контроль, $n = 10$	Больные с электротравмой в первые сутки, $n = 10$
Циркулирующие эндотелиальные клетки (ЦЭК) CD45+ клеток на 500 000 клеток крови	12,5 (10,25; 14,75)	16,0 (15,25; 20,0) $p = 0,033$
% живых ЦЭК	100,0 (100,0; 100,0)	50,0 (70,0; 100,0)
% мертвых ЦЭК	0	30,0 (0; 50,0)

Примечание. p – достоверность разницы показателей относительно контроля.

Возрастание количества клеток эндотелия в крови являлось прямым следствием повреждения электричеством стенки сосудов. При этом воздействие электрического тока на эндотелий могло приводить как к клеточному некрозу, так и к фазовым переходам фосфолипидов клеточных мембран из жидкокристаллического состояния в кристаллическое. По всей видимости, пусковым механизмом в формировании нарушений систем микроциркуляторного гемостаза, развития воспалительной реакции при электротравме является альтерация клеток эндотелия сосудов. Повреждение электричеством признается особым видом травмы, при котором происходят морфофункциональные изменения состояния эндотелия сосудов.

Таким образом, не вызывает сомнений факт деструктивного действия переменного электрического тока на эндотелиальный слой сосудистой стенки. С учетом высокой гормональной и регуляторной активности эндотелиоцитов их альтерация и дисфункция занимают ключевое место в патогенезе электротравмы.

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

Таблица 2

Концентрация нитритов в крови у пострадавших с электротравмой *Me* (25-й процентиль; 75-й процентиль). Критерий Манна – Уитни

Показатели	Контроль, $n = 15$	Больные с электротравмой, $n = 15$
Нитриты, мкмоль/л	4,12 (3,95; 4,19)	2,26 (2,16; 2,27) $p < 0,001$

Примечание. p – достоверность разницы показателей относительно контроля.

Снижение содержания оксида азота (NO) может быть связано с нарушением экспрессии или транскрипции фермента NO-синтазы (NOS), уменьшением доступности L-аргинина (субстрата для NOS) или ускоренным разрушением NO, например, при повышенном образовании свободных радикалов [10]. С учетом того, что в регуляции практически всех функций эндотелия принимает участие NO, чувствительность к повреждению электричеством данного фактора оказалась высокой [11].

Снижение синтеза NO является одним из главных патогенетических звеньев дисфункции эндотелия (ДЭ). Поэтому многие исследователи оценивают именно этот показатель в качестве основного маркера ДЭ [8–10, 12].

Таким образом, не вызывает сомнений тезис о влиянии повреждения электрическим током на изменение активности эндотелия сосудистой стенки в отношении продукции и секреции основного вазорегуляторного фактора эндотелиального генеза – оксида азота. Снижение нитроксидпродуцирующей функции эндотелиоцитов, по всей видимости, способно индуцировать различные изменения в системе гемостаза, особенно в зоне альтерации сосудистой стенки.

Выводы

1. Выявлено, что у больных с электротравмой на 30 % увеличивалось содержание десквамированных эндотелиоцитов в циркулирующей крови по сравнению с контрольной группой.

2. Установлено, что у пациентов происходило снижение концентрации нитритов крови в 1,8 раза относительно контроля.

Список литературы

1. **Koumbourlis, A. C.** Electrical injuries / A. C. Koumbourlis // *Crit Care Med.* – 2002. – Vol. 30, № 11. – P. 424–430.
2. **Spies, C.** Narrative review: Electrocution and life-threatening electrical injuries / C. Spies, R. G. Trohman // *Ann. Intern. Med.* – 2006. – Vol. 145. – P. 531–537.
3. Руководство по судебной медицине / В. В. Томилин [и др.]. – М. : Медицина, 2001. – С. 117–122.
4. **Черешнев, В. А.** Патофизиология / В. А. Черешнев, Б. Г. Юшков. – М. : Вече, 2001. – С. 140–143.
5. **Danielson, J.** Electrical Injury of the Upper Extremity / J. Danielson, M. Capelli, R. C. Lee // *Hand Clinics.* – 2000. – Vol. 16. – P. 225–234.
6. Спинальная амиотрофия вследствие электротравмы / И. В. Дамулин [и др.] // *Неврологический журнал.* – 2006. – № 1. – С. 36–40.
7. **Кузник, Б. И.** Физиология и патология системы крови / Б. И. Кузник. – М. : Вузовская книга, 2004. – С. 43–51.
8. **Петрищев, Н. Н.** Физиология и патофизиология эндотелия / Н. Н. Петрищев, Т. Д. Власов // *Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция.* – СПб., 2003. – С. 4–38.
9. **Голиков, П. П.** Метод определения нитрита/нитрата (NO_x) в сыворотке крови / П. П. Голиков, Н. Ю. Николаева // *Вопросы биомедицинской химии.* – 2004. – № 1. – С. 79–85.
10. **Ивашкин, В. Т.** Особенности синтеза оксида азота у больных с хронической сердечной недостаточностью / В. Т. Ивашкин, С. В. Горбатенова, О. М. Драпкина // *Клиническая медицина.* – 2004. – № 2. – С. 20–23.
11. **Гилинский, М. А.** Эндогенная регуляция биодоступности оксида азота. Клинические корреляты и подходы к анализу / М. А. Гилинский, Е. Ю. Брусенцев // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* – 2007. – № 3. – С. 109–115.
12. **Богомолова, И. К.** Оксид азота и его метаболиты как маркеры дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом / И. К. Богомолова, В. А. Михно // *Забайкальский медицинский вестник.* – 2011. – №1. – С. 140–146.

References

1. **Koumbourlis A. C.** *Crit Care Med.* 2002, vol. 30, no. 11, pp. 424–430.
2. **Spies C.** *Ann. Intern. Med.* 2006, vol. 145, pp. 531–537.
3. **Tomilin V. V. et al.** *Rukovodstvo po sudebnoy meditsine* [Forensic medicine guide]. Moscow: Meditsina, 2001, pp. 117–122.
4. **Chereshnev V. A., Yushkov B. G.** *Patofiziologiya* [Pathophysiology]. Moscow: Veche, 2001, pp. 140–143.
5. **Danielson J., Capelli M., Lee R. C.** *Hand Clinics.* 2000, vol. 16, pp. 225–234.
6. **Damulin I. V. et al.** *Nevrologicheskiy zhurnal* [Neurologic journal]. 2006, no. 1, pp. 36–40.
7. **Kuznik B. I.** *Fiziologiya i patologiya sistemy krovi* [Circulatory system's physiology and pathology]. Moscow: Vuzovskaya kniga, 2004, pp. 43–51.

8. **Petrishchev N. N., Vlasov T. D.** *Disfunktsiya endoteliya. Prichiny, mekhanizmy, farmakologicheskaya korrektsiya* [Endothelium dysfunction. Reasons, mechanisms, pharmacological correction]. Saint Petersburg, 2003, pp. 4–38.
 9. **Golikov P. P., Nikolaeva N. Yu.** *Voprosy biomeditsinskoy khimii* [Biomedical chemistry issues]. 2004, no. 1, pp. 79–85.
 10. **Ivashkin V. T., Gorbatenova S. V., Drapkina O. M.** *Klinicheskaya meditsina* [Clinical medicine]. 2004, no. 2, pp. 20–23.
 11. **Gilinskiy M. A., Brusentsev E. Yu.** *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk* [Bulletin of the Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2007, no. 3, pp. 109–115.
 12. **Bogomolova I. K., Mikhno V. A.** *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik* [Zabaykalsky medical bulletin]. 2011, no. 1, pp. 140–146.
-

Любин Антон Викторович

соискатель, кафедра анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, Читинская государственная медицинская академия (г. Чита, ул. Горького, 39а)

E-mail: paginacia@mail.ru

Lyubin Anton Viktorovich

Applicant, sub-department of anaesthesiology, resuscitation and intensive care, Chita State Medical Academy (Chita, 39a Gorkogo str.)

Шапалов Константин Геннадьевич

доктор медицинских наук, заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, Читинская государственная медицинская академия (г. Чита, ул. Горького, 39а)

E-mail: Shkg26@mail.ru

Shapovalov Konstantin Gennad'evich

Doctor of medical sciences, head of sub-department of anaesthesiology, resuscitation and intensive care, Chita State Medical Academy (Chita, 39a Gorkogo str.)

УДК 616-001.21: 616.017.1

Любин, А. В.

Состояние эндотелия при электротравме / А. В. Любин, К. Г. Шапалов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2013. – № 2 (26). – С. 27–32.