МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования

**«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**(ФГБОУ ВО «КубГУ»)**

**Факультет биологический**

**Кафедра генетики, микробиологии и биохимии**

Допустить к защите\_\_\_\_\_

Заведующий кафедрой,\_\_

канд.биол.наук, доцент\_\_

\_\_\_\_\_\_А. А. Худокормов

«\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2020 г.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

**(БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)**

**ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ СЕПТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ В УСЛОВИЯХ СТАЦИОНАРА**

Работу выполнил(а)\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_А. Э. Рыль

(подпись)

Направление подготовки 06.03.01 Биология \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(код, наименование)

Направленность (профиль) \_\_\_\_\_\_Биохимия\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Научный руководитель

канд. биол. наук, доцент\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_М. Л. Золотавина

(подпись, дата)

Нормоконтролёр

канд. биол. наук, доцент\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Н. Н. Улитина

(подпись, дата)

Краснодар

2020

**РЕФЕРАТ**

Выпускная квалификационная работа 55 с., 6 табл., 3 рис., 56 источ-ников.

ОБЩИЙ БЕЛОК, АЛЬБУМИН, АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА, АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗА, С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК, ПРО-КАЛЬЦИТОНИН, ПРЕСЕПСИН, СЫВОРОТКА КРОВИ, ФОТОМЕТРИЯ, ИММУНОХЕМИЛЮМИНИСЦЕНЦИЯ, СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ СЕПСИСА, ХИРУРГИЧЕСКИЙ СЕПСИС

Цель работы – определение изменений содержания биомаркеров воспаления в сыворотке крови больных в процессе формирования септического процесса в условиях стационара.

Исследования проводились на базе ГБУЗ «Научно-исследовательский институт–краевая клиническая больница № 1 им. проф. С. В. Очаповского».

В качестве материала исследования выступала сыворотка крови больных с диагнозом сепсис и сыворотка пациентов контрольной группы. Использованные методы исследования: фотометрические, иммунологичес-кие.

Биомаркерами сепсиса можно считать прокальцитонин и пресепсин. Биомаркером с наиболее значимыми отклонениями в сыворотке пациентов с септическим процессом является концентрация прокальцитонина, которая во время четвертой стадии превышала референтные значения в 50 раз. Наиболее ранним и специфическим маркером септического процесса является пресепсин. Концентрации С-реактивного белка не отражают наличие септического процесса.

**СОДЕРЖАНИЕ**

[Введение 6](#_Toc38711631)

[1 Аналитический обзор 8](#_Toc38711632)

...[1.1 Биохимические показатели формирования септического процесса 8](#_Toc38711633)

.........[1.1.1 Биомаркеры воспаления 9](#_Toc38711634)

.........[1.1.2 Другие биохимические исследования 14](#_Toc38711635)

...[1.2 Биохимическое сопровождение степеней тяжести септического .........процесса 15](#_Toc38711636)

.........[1.2.1 Биохимические процессы, развивающиеся при хирургическом ..................сепсисе 17](#_Toc38711637)

[2 Материал и методы 19](#_Toc38711638)

...[2.1 Материал исследования 20](#_Toc38711639)

...[2.2 Методы исследования 21](#_Toc38711640)

...[2.3 Статистическая обработка данных 23](#_Toc38711641)

[3 Особенности изменения биомаркеров воспаления в процессе формирования ...септического процесса у больных в условиях стационара. 25](#_Toc38711642)

...[3.1 Изменения биохимических показателей при септическом процессе. 25](#_Toc38711643)

.........[3.1.1 Изменения биохимических показателей при первой стадии ..................септического процесса 25](#_Toc38711644)

.........[3.1.2 Изменения биохимических показателей при второй стадии ..................септического процесса 28](#_Toc38711645)

.........[3.1.3 Изменения биохимических показателей при третьей стадии ..................септического процесса 31](#_Toc38711646)

.........[3.1.4 Изменения биохимических показателей при четвертой стадии ..................септического процесса 33](#_Toc38711647)

...[3.2 Изменения биохимических показателей при хирургическом сепсисе .........различной локализации 36](#_Toc38711648)

...[3.3 Сравнение значений биомаркеров воспаления в процессе формирования .........септического процесса 42](#_Toc38711649)

Заключение.............................................................................................................49

[Список использованных источников 49](#_Toc38711650)

**ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ПКТ – прокальцитонин

ПСП – пресепсин

СРБ – С-реактивный белок

Сепсис – вторая степень тяжести септического процесса

Септический шок – четвертая степень тяжести септического процесса

ССВО – синдром системного воспалительного ответа

ССВО – первая степень тяжести септического процесса

Тяжелый сепсис – третья степень тяжести септического процесса

# **ВВЕДЕНИЕ**

Основу септического процесса составляет системная воспалительная реакция организма, сопровождающаяся биохимическими изменениями, в ответ на действие инфекционных агентов различной природы. Сепсис продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем современной медицины, так, по данным Глобального Альянса, который занимается данной проблемой, ежегодно в мире сепсис диагностируется более чем у 26 миллионов человек, треть из которых умирает [Абелевич, 2011]. По мнению А. П. Колесниченко и др. [2015], каждый год в мире количество пациентов с сепсисом увеличивается на 8–13%. Статистика новых случаев сепсиса неуклонно растет, во-первых, из-за старения населения (особенно в развитых странах) и во-вторых, из-за распространения количества иммуносупрессивных состояний, использования химиотерапии при раковых заболеваниях и из-за широкого применения инвазивных технологий [Информативность различных биохимических…, 2015]. Одной из основных причин подобной статистики является трудность диагностики сепсиса, так как «классические» маркеры воспаления (количество лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарная формула, лейкоцитарный индекс интоксикации и СРБ) имеют довольно низкую специфичность и не могут быть достаточно надежными для ранней и точной диагностики септического процесса. В настоящее время перспективным является поиск биохимического маркера, который с точностью мог бы указывать на наличие септического процесса в организме.

 Не смотря на долгое изучение сепсиса различной этиологии, до сих пор не было исследовано как изменяются биомаркеры воспаления в зависимости от тяжести и локализации септического процесса. Так как воспалительные осложнения являются одной из основных причин летального исхода у больных хирургического и соматического профилей, проблема ранней диагностики сепсиса, определения тяжести септического процесса и выявление специфичности течения воспалительного процесса в зависимости от локализации хирургического сепсиса являются актуальными на сегодняшний момент [Биохимические маркеры системной…, 2007].

Цель работы – определение изменений содержания биомаркеров воспаления в сыворотке крови больных в процессе формирования септического процесса в условиях стационара.

Для достижения поставленной цели были выполнены следующие задачи:

1. исследовать изменения концентрации биохимических показателей воспаления при различных стадиях септического процесса;
2. исследовать изменения концентрации биохимических показателей воспаления при хирургическом сепсисе различной локализации;
3. выделить наиболее показательные биомаркеры воспаления в процессе формирования септического процесса.

# **1 Аналитический обзор**

# **Биохимические показатели формирования септического процесса**

Сепсис является процессом, угрожающим жизни человека, его причиной является инфекционный процесс и вызванный им разрегулированный иммунный ответ организма. Развивается сепсис в результате сложных взаимодействий различных систем организма с возбудителем. На первых этапах развития септического процесса происходит стимулирование специфических иммунных ответов (гуморального и клеточного), их активация приводит к повышению синтеза иммуноглобулинов, которые связываются с микроорганизмами и способствуют их гибели [Вельков, 2008].

Для септического процесса характерно наличие первичного очага (входных ворот), из-за которого происходит многократная диссеминация возбудителя-микроорганизма, вследствие чего происходит поражение различных органов и систем организма [Ребенок, 2007]. К настоящему времени есть все основания утверждать, что реакция генерализованного воспаления лежит в основе септического процесса. Процесс неконтролируемого выброса эндогенных медиаторов воспаления является основной причиной системных повреждений органов вне первичного очага. [Сепсис в клинике инфекционных…, 2015].

На сегодняшний день не существует основного критерия диагностики сепсиса. Постановка диагноза основывается на совокупности клинико-лабораторных признаков, учитывая, что сепсис представляет собой динамический процесс, который часто развивается по непрогнозируемому сценарию [Особенности диагностики сепсиса…, 2016]. Большинство врачей для постановки диагноза учитывают наличие синдрома системного воспалительного ответа, полиорганной недостаточности и выделения гемокультуры. Также важным диагностическим признаком является наличие септического очага. Обычно септический процесс: нарушениями функций основных органов (почек, печени и т.д.); нарушениями гемодинамики; нарушениями дыхания; развитием физических и химических сдвигов во внутренних средах организма; сдвигами в иммунологической системе организма [Вельков, 2008].

Нарушение функционирования жизненно важных систем и органов организма, нарушение обменных процессов при наличии септического процесса приводят к физико-химическим сдвигам во внутренних средах организма больного. При этом имеют место:

а) развивающаяся острая гипопротеинемия, которая может приводить к нарушению функции буферной емкости плазмы;

б) развивается печеночная недостаточность, которая усугубляет развитие гипопротеинемии;

в) нарушение кислотно-щелочного состояния вследствие изменения функции почек, что также влияет на водно-электролитный обмен (особенно страдает калиево-натриевый обмен) [Сепсис в клинике инфекционных болезней. Тактика…, 2015].

Поражения печени, характеризующиеся повышением уровня трансаминаз более чем в 2 раза, обнаруживают у 10–58% больных с сепсисом, причем частота выявления нарушений функций печени зависит от тяжести состояния больных [Денисова, 2013].

Сложно протекающий процесс системного воспалительного ответа организма, ставит перед исследователями вопрос о биомаркерах, способных решить проблему ранней диагностики сепсиса и определения тяжести протекания септического процесса.

# **1.1.1 Биомаркеры воспаления**

Биологические маркеры – это биологические параметры, количество которых определяет норму или патологию. С их помощью также можно наблюдать за эффективностью лекарственной коррекции заболевания. В практическом применении это понятие используется более расширенно, но в общем, биомаркер – это количественно измеряемый биохимический показатель, концентрация которого может указывать на большую вероятность наличия определенной патологии.Самым классическим биомаркером воспаления является С-реактивный белок.

*С-реактивный белок* – относится к одним из наиболее широко изучаемых системных маркеров воспаления. Он относится к семейству пентраксинов и состоит из пяти одинаковых субъединиц, нековалентно связанных между собой. СРБ обладает рядом свойств, характерных для иммуноглобулинов: в том числе имеет способность связываться с бактериальными полисахаридами и гликолипидами, а также с поврежденными мембранами и с экспонированными ядерными антигенами [Marshall, Reinhart, 2009]. Синтезируется СРБ в основном в печени, но способность к его синтезу есть также у нейронов, клеток почек, моноцитов, лимфоцитов и макрофагов альвеол [Диагностические и прогностические…, 2011].

На сегодняшний день получены данные о существовании по крайней мере двух конформационно различных изоформ белка – пентамерной и мономерной, которые несут различную функциональную нагрузку. Пентамерный СРБ несет в себе пять идентичных полипептидных цепей, каждая из которых содержит 206 аминокислотных остатков. Полипептидные цепи в присутствии ионов кальция связываются нековалентно и симметрично располагаются вокруг центральной пары. Время полужизни пентамерного СРБ относительно мало, если сравнивать с другими белками плазмы крови и составляет всего 19–24 часа. В плазме крови здорового человека уровень СРБ составляет примерно 0,8 мг/л. СРБ-мономер в норме найден практически во всех тканях организма. На сегодняшний день обсуждаются два механизма образования мономерного СРБ: экспрессия и диссоциация. Также как СРБ-пентамер, мономерный СРБ стимулирует классический путь активации комплемента, но обладает более выраженным противовоспалительным эффектом [Vincent, 2011].

С-реактивный белок играет одну из ключевых ролей в выведении из организма биоактивных лизофосфолипидов и жирных кислот, которые образуются при повреждении и разрушении клеточных мембран [Морозов, 2012]. В отсутствии патологии фосфатидилхолин обычно на поверхности клеток не обнаруживается, но при их повреждении происходит обмен фосфолипидов между внутренним и внешним листками мембраны, и внешний лист обогащается фосфатидилсерином и фосфотидилэтаноламином. Такое перераспределение фосфолипидов делает их более восприимчивыми к гидролизу секреторной фосфолипазой А2, что приводит к связыванию СРБ с поврежденной клеткой и дальнейшее удаление ее остатков [Бархатова, 2009].

При возникновении воспалительного процесса концентрация СРБ в крови увеличивается значительно, примерно в 10-100 раз. Также выявлена прямая взаимосвязь между изменение уровня СРБ и тяжестью и динамикой клинических проявлений воспаления. Именно поэтому измерение концентрации СРБ так широко применяется для выявления, мониторинга и контроля эффективности терапии инфекций, как вирусных, так и бактериальных, хронических воспалительных заболеваний, осложнений в различных областях и др. Уровень СРБ начинает повышаться вместе с его секрецией через четыре-шесть часов после того, как инфекционный агент попал в организм, его концентрация удваивается каждые восемь часов и достигает пика примерно через 36–50 часов. Затем, после элиминации возбудителя, концентрация СРБ быстро снижается, в связи с относительно коротким периодом полураспада. Самые высокие уровни СРБ наблюдаются при бактериальных инфекциях, концентрация увеличивается до 100 мг/л и выше. При своевременной и эффективной терапии концентрация СРБ снижается на следующий день, если этого не происходит, то необходимо решать вопрос о выборе другого антибактериального лечения. Во время вирусной терапии уровень СРБ повышается незначительно, что используют для разделения бактериальных и вирусных очагов инфекции. Если концентрация СРБ не снижается в течение четырех–пяти дней после хирургического вмешательства, это указывает на развитие осложнений в виде пневмонии, раневого абсцесса, сепсиса и др. [Вельков, 2008].

До сих пор до конца не выяснена физиологическая роль СРБ. Высокий уровень CРБ может служить маркером как начального развития, так и хронизации различных патологий. Данных о влиянии пониженного значения CРБ нет.

Референтные значения СРБ составляют 0,00–8,00 мг/л.

*Прокальцитонин* – аминокислотный полипептид, молекулярная масса которого 13 кДа. Синтезируется ПКТ С-клетками щитовидной железы из своего предшественника – препрокальцитонина. Метаболизируется ПКТ в щитовидной железе, но в кровоток не поступает. В норме у здорового человека уровень ПКТ менее 0,5 нг/мл. Прокальцитонин, в отличии от кальцитонина, период полужизни которого около десяти минут, имеет более продолжительный период полужизни, который составляет 22–35 часов, в плазме крови [Ingram, 2013]. Бактериальные тела и эндотоксины являются главными и наиболее сильными стимуляторами продукции ПКТ и его выхода в кровоток. При возникновении бактериальной инфекции происходит резкая экстратиреоидальная выработка ПКТ в нейроэндокринных клетках легких, в поджелудочной железе, печени, макрофагах, моноцитах и других тканях. Повышение уровня ПКТ стимулирует экзо- и эндотоксины при участии цитокинов. Уровень кальцитонина не повышается. Концентрация ПКТ увеличивается через короткое время после пика повышения уровня цитокинов [Попов, Овсеенко, Вострикова, 2014]. Концентрации ПКТ выше 10 нг/мл можно наблюдать почти исключительно у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком. Однако, применение ПКТ в качестве единственного маркера сепсиса диагностически неправильно, и имеет возможность получения как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. Это случается потому, что неспецифическое по отношению к инфекции увеличение концентрации ПКТ наблюдается при массовой гибели клеток. Поэтому после хирургического вмешательства или тяжелой травмы концентрация маркера в крови повышается, но при отсутствии инфекции через три–пять дней нормализуется. На ранних стадиях инфекционного процесса, пока он еще имеет локальный характер, концентрация ПКТ может быть в норме или повышена незначительно. Поэтому уверенно подтвердить или исключить наличие сепсиса только на основе определения ПКТ невозможно [Диагностическая ценность определения..., 2017].

Референтные значения прокальцитонина составляют 0,00–0,50 нг/мл.

*Пресепсин* – белок, содержит N-терминальный фрагмент CD14 мембранного белка макрофагов, который способен «распознавать» сигнал о наличии бактерий, и не имеет С-терминального участка, ответственного за связывание с липополисахаридами микроорганизмов [Faix, 2014]. На данный момент установлено, что пресепсин относится к гуморальным факторам, которые специфичны для фагоцитоза. Уровень пресепсина начинает увеличиваться через 1,5 часа после начала инфекционного процесса, а синтез провосполительного интерлейкина ИЛ-6 – через три часа [Окамура, Томэ, 2014].

В. В. Вельковым [2012] доказано, что уровень пресепсина выше при локальной инфекции, чем при синдроме системного воспалительного ответа. Это указывает на то, что данный белок не реагирует на воспалительные процессы, не связанные с инфекциями. Специфичность пресепсина выше, чем других маркеров, применяемых для диагностики сепсиса: для пресепсина – 0,845 Ед, прокальцитонина – 0,652 Ед, С-реактивного белка – 0,815 Ед [Вельков, 2012].

Пресепсин – гуморальный белок, выделяемый в циркуляцию фагоцитами при фагоцитозе. Он отражает динамику сепсиса раньше и быстрее, чем другие известные маркеры, и поэтому может использоваться в качестве нового высокоспецифичного и высокочувствительного маркера сепсиса, определение уровня которого весьма эффективно для ранней диагностики, мониторинга и прогнозирования неблагоприятных исходов септического процесса [Авдеева, Лебедев, Шубич, 2010].

Референтные значения пресепсина составляют 60,0–320,0 нг/мл.

Таким образом, современными биомаркерами воспаления являются С-реактивный белок, прокальцитонин и пресепсин.СРБ является классическим маркером воспаления, но мало может сказать о его причине и не отражает тяжесть течения септического процесса. ПКТ и ПСП являются наиболее специфичными маркерами септического процесса.

# **1.1.2 Другие биохимические исследования**

*Общий белок* – совокупность всех циркулирующих белков крови, является основной составной частью крови. При наличии воспалительных процессов в организме может повышаться концентрации общего белка. При прогрессирующем септическом процессе обычно наблюдаются пониженные концентрации общего белка (особенно при септическом шоке, сопровождающимся полиорганной недостаточностью), что связанно с токсическим поражением гепатоцитов. При воспалительных процессах концентрация общего белка обычно изменяется за счет отдельных его фракций. Референтные значения 60,0–80,0 г/л [Медведев, 2006].

*Альбумин* – самая большая фракция белков плазмы (около 55–65 процентов). Основные функции альбумина представлены поддержанием онкотического давления плазмы, транспортом различных молекул, а также резервом для аминокислот. При наличии септического процесса в организме обычно обнаруживается гипоальбуминемия, связанная с нарушением белоксинтетической функции печени или (при прогрессирующем септическом процессе) с поражением и некрозом гепатоцитов. Гиперальбуминемия встречается редко. Референтные значения 38,0–54,0 г/л [Кишкун, 2012].

*Аланинаминотрансфераза* в большем количестве синтезируется в печени, а также в почках, поджелудочной железе, миокарде, скелетных мышцах (но в меньших количествах). Повышенная активность этого фермента в сыворотке обычно считается индикатором поражения печени. Референтные значения 5,0–40,0 Ед/л [Лелевич, 2013].

*Аспартатаминотрансфераза* представляет собой один из основных ферментов, синтезирующихся в печени. Содержание этого фермента в сыворотке крови невелико, так как большая его часть находится в гепатоцитах. Определение уровня АСТ обычно проводят в комплексе с АЛТ. Наличие данных об уровне этих двух ферментов позволяет предположить локализацию патологического процесса, его тяжесть и строить прогноз. Референтные значения 5,0–38,0 Ед/л [Лелевич, 2013].

# **Биохимическое сопровождение степеней тяжести септического процесса**

На данный момент существуют несколько различных классификаций септического процесса. В «Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем» септический процесс классифицируются по различным критериям: в зависимости от входных ворот инфекции, в зависимости от первичного очага и др. Клиническая классификация сепсиса, предложенная согласительной конференцией Американского колледжа пульмонологов и Общества специалистов критической медицине, включает: синдром системного воспалительного ответа, сепсис, тяжелый сепсис и септический шок.

*Синдром системного воспалительного ответа*. ССВО является первой степенью тяжести септического процесса. ССВО является неспецифическим ответом организма на повреждения различного характера или внедрения какого-либо возбудителя. При формировании септического процесса ССВО возникает на фоне первичного гнойно-воспалительного очага, травмы или хирургического вмешательства. При ССВО характерно увеличение выработки, главным образом, провоспалительных и противовоспалительных (в меньшей степени) цитокинов практически всеми клетками организма, но в первую очередь, иммунокомпетентными клетками. Наиболее тяжелой является реакция организма, называемая «медиаторный хаос», «медиаторный шторм». Усиленно, неадекватное развитие ССВО в итоге приводит к массовому индуцированному апоптозу, а в некоторых случаях – некрозу клеток. Также важно, что ССВО лежит в основе всех тяжелых патологических состояний как инфекционных, так и неинфекционных [Егиазарян, Мириджанян, Акопян, 2009].

Основными признаками ССВО, являются: повышение концентрации белков острой фазы (в частности СРБ), развитие лейкоцитоза, а в тяжелых случаях возможна лейкопения, повышение числа незрелых форм лейкоцитов более 10 процентов, развитие гипокапнии и др. [Шлоссберг, Шульман, 2000]. Наиболее чувствительным показателем ССВО является возрастание концентрации в крови концентрации СРБ. Увеличение продукции С-реактивного белка печенью связаны с последующим развитием комплекса системных реакций, в частности, активацией комплемента, подавлением функции тромбоцитов и лимфоцитов, торможением ретракции сгустка, стимуляцией фагоцитарной активности нейтрофилов [Карпов, Качанко, Юровский, 2006].

Чаще всего развитие ССВО не сопровождается патологическими изменениями уровня ПКТ, а при их наличии можно говорить о начале развития септического процесса.

*Сепсис* (вторая степень тяжести септического процесса) – представляет собой генерализованную форму гнойно-воспалительной инфекции, которую индуцирует условно-патогенная бактериальная микрофлора, в основе патогенеза которой лежит неуравновешенное развитие системной реакции организма. О генерализации сепсиса можно говорить, если бактериемия (или другие признаки инфекции) сопровождается двумя и более признаками ССВО и нарушением различных систем организма. Показатели концентрации СРБ при сепсисе могут превышать нормальные значения в сотни раз. Концентрация ПКТ иногда может оставаться в пределах от 0,5 нг/мл до 2 нг/мл (в так называемой «серой зоне»), в этом случае необходимо повторить измерения через 6–24 часов. Наиболее часто при сепсисе концентрация ПКТ поднимается выше 2 нг/мл, если уровень ПКТ поднимается выше 10 нг/мл можно говорить о развитии тяжелого сепсиса. Показатели пресепсина при сепсисе могут значительно превышать норму [Козлов, 2006].

*Тяжелый сепсис* – сепсис, характеризующийся сочетанием с органной дисфункцией, гипотензией, нарушением тканевой перфузии, является третьей степенью тяжести септического процесса. Принципиальным различием диагноза «тяжелый сепсис» от «сепсиса» является степень выраженности поражения органов и систем и нарушений их функции, которая выражается в динамике биохимических показателей [Козлов, 2014].

*Септический шок* – сепсис, сочетающйся с признаками тканевой и органной гипоперфузии и артериальной гипотонией, представляет собой четвертую степень тяжести септического процесса. Септический шок отличается от сепсиса, протекающего без шока тем, что сопровождается тяжелой гормональной дисфункцией [Прасмыцкий, Ржеутская, 2016]. Предполагается, основу септического шока представляют, как чрезмерная активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, так и цитокиновый «шторм». Как при тяжелом сепсисе, так и при септическом шоке показатели биомаркеров воспаления принимают критические значения [Вельков, 2008].

К особой форме септического процесса можно отнести хирургический сепсис, характеризующийся наличием входного очага инфекции в виде области проведения операции, и сопровождающийся специфическими изменениями биохимических показателей крови.

Таким образом, септический процесс развивается в четыре стадии, каждая из которых характеризуется различной тяжестью нарушений многих органов и систем организма, а также различными изменениями показателей сыворотки крови.

# **1.2.1 Биохимические процессы, развивающиеся при хирургическом сепсисе**

**В зависимости от входных ворот инфекции сепсис подразделяется на хирургический, гинекологический, раневой и др.**

**Генерализованные воспалительные осложнения являются основной причиной развития летальных исходов у больных хирургического профиля в послеоперационном периоде.** Патологические процессы, наблюдаемые при хирургическом сепсисе, затрагивают практически все органы и системы организма [[Мор](https://www.rmj.ru/authors/mor_l_dzh/), [Мор](https://www.rmj.ru/authors/mor_f_a/), [Джонс, 2010](https://www.rmj.ru/authors/dzhons_s_l/) ].

Неконтролируемое распространение провоспалительных медиаторов эндогенного происхождения из первичного очага приводит к формированию ССВО. После того как токсические бактериальные продукты попадают в кровоток, активируется как гуморальный, так и клеточный иммунитет. Активированные клетки (нейтрофилы, моноциты, макрофаги, клетки эндотелия) вырабатывают медиаторы, которые, в свою очередь, инициируют и поддерживает ССВО. К продуктам активации гуморальной (неклеточной) иммунной системы относят кинины (брадикини) метаболиты арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены), комплемент, протеазы и др. Патологические процессы в печени, селезенке выражаются в виде желтухи, повышения уровня трансаминаз [Абелевич, 2011].

В рамках данной работы мы классифицировали хирургический сепсис по области проведения операции и проследили особенности и закономерности изменения биохимических показателей при развитии септического процесса, возникшего в результате хирургического вмешательства в области сердца, легких и желудочно-кишечного тракта.

Таким образом, частным случаем септического ответа является хирургический сепсис, который возникает в ответ на операционное вмешательство и область операции становится входными воротами инфекции.

Таким образом, сепсис является одним из тяжелейших осложнений заболеваний как терапевтического, так и хирургического профиля. Септический процесс в своем развитии проходит четыре степени тяжести, характеризующиеся различными нарушениями органов и систем организма, которые имеют свое отражение в изменении биохимических показателей. Для диагностики сепсиса используются как классические биохимические показатели, так и специфические биомаркеры воспаления. К биомаркерам сепсиса относят С-реактивный белок, прокальцитонин и пресепсин.

# **2 Материал и методы**

Для выполнения поставленных задач была проанализирована 151 сыворотка стационарных больных: 86 мужчин, средний возраст которых составлял 68,6 лет (от 18 до 84 лет) и 65 женщин, средний возраст которых 54,22 лет (от 23 до 88 лет). Проанализированные больные проходили лечение в ГБУЗ «Научно-исследовательский институт–краевая клиническая больница № 1 им. проф. С. В. Очаповского» в период с января 2016 по апрель 2020 года и имели в диагнозе одну из степеней тяжестей соматического септического процесса или септические осложнения после перенесенных операционных вмешательств (хирургический сепсис). Из проанализированных пациентов:

Следуя цели работы все исследуемые сыворотки были поделены на несколько групп с учетом тяжести септического процесса. Выделялось четыре группы: пациенты с ССВО, сепсисом, тяжелом сепсисом и септическим шоком. Также отдельно были исследованы сыворотки пациентов с хирургическим сепсисом, они были разделены на три группы в зависимости от области проведенной операции. Подробные данные о контингенте больных представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Контингент исследований

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Пол | Возраст | Соматический сепсис | Хирургический сепсис |
| Степень тяжести | Область операции |
| I  | II | III | IV | Сердце | ЖКТ | Легкие |
| Мужчины | 18–44 | 2 | 4 | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 |
| 44–60 | 2 | 6 | 3 | 1 | 4 | 4 | 2 |
| 60–75 | 5 | 18 | 4 | 5 | 2 | 1 | 3 |
| 75–90 | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| Всего мужчин | 10 | 32 | 9 | 9 | 9 | 10 | 7 |
| Женщины | 18–44 | 1 | 6 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| 44–60 | 2 | 7 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| 60–75 | 1 | 6 | 1 | 1 | 2 | 4 | 3 |
| 75–90 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| Всего женщин | 5 | 21 | 8 | 6 | 6 | 10 | 9 |

Из таблицы 1 можно отметить, что чаще всего септический процесс диагностировался у мужчин в возрасте от 60 до 75 лет, а наиболее редко септический процесс встречался у пациентов в возрасте от 75 до 90 лет любого пола. Л. Дж. [Мор](https://www.rmj.ru/authors/mor_l_dzh/), Ф. A. [Мор](https://www.rmj.ru/authors/mor_f_a/)и С. Л. [Джонс](https://www.rmj.ru/authors/dzhons_s_l/)  [2010] в своем исследовании в также отмечали значительное повышение частоты встречаемости септического процесса у мужчин старше 60 лет [[Мор](https://www.rmj.ru/authors/mor_l_dzh/), [Мор](https://www.rmj.ru/authors/mor_f_a/), [Джонс, 2010](https://www.rmj.ru/authors/dzhons_s_l/)]. Стоит отметить, что наиболее часто у пациентов встречалась вторая степень тяжести септического процесса, что, возможно, связанно с недостаточно точной ранней диагностикой ССВО.

Помимо основных параметров, являющихся маркерами сепсиса (С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин), нами был выбран ряд показателей, которые могут служить дополнительной информацией для проведения дальнейшего анализа и систематизации данных и делать исследование более полноценным и достоверным (АСТ, АЛТ, общий белок, альбумин). Каждый показатель был оценен в динамике, кроме прокальцитонина, значения которого определялись только в день поступления в стационар.

В качестве контрольной группы проанализирована 71 сыворотка крови стационарных больных, сопоставимых по возрасту и полу с основной группой, имеющих различные заболевания, но не имеющих септических осложнений.

В связи с тем, что количество пациентов в выборках небольшое, нами было принято решение для дальнейшего исследования объединить выборки мужчин и женщин и исследовать группы с различными степенями тяжести соматического септического процесса, а также группы с различной локализацией очага инфекции у больных с хирургическим септическим процессом.

# **2.1 Материал исследования**

Материалом для исследования служила сыворотка крови (венозная кровь, взятая без антикоагулянта). Взятие крови проводилось натощак из локтевой вены в одноразовую пробирку вакуумного типа с активатором сгустка. Важным в преаналитичеком этапе было исключить все факторы, которые способны повлиять на результаты исследования: как физическое, так и эмоциональное напряжение; курение (минимум за час до исследования) и др. При взятии образцов соблюдалась техника, предупреждающая гемолиз эритроцитов, так как гемолитическая сыворотка может стать причиной ошибочных результатов исследования. Закрытые системы с пробирками вакуумного типа максимально способны обеспечить соблюдение правил преаналитического этапа исследований и сократить вероятность ошибок при анализах. Пробирку с кровью центрифугировали 10 минут при 1500–2000 оборотах в минуту.

Таким образом, было исследовано 222 сыворотки крови стационарных пациентов, из них: 151 сыворотка была отнесена к основной группе исследования и 71 сыворотка – контрольной группе. Забор материала исследования (сыворотки крови) производился без нарушения технологий для предотвращения ложных результатов.

# **2.2 Методы исследования**

Исследования АЛТ, АСТ, общего белка, альбумина и СРБ выполнялись на биохимическом анализаторе ADVIA 2400. Advia 2400 является высокопроизводительным автоматическим биохимическим анализатором. Данный анализатор имеет встроенную систему контроля качества исследований, которая отличается высокой надёжностью, максимальной продолжительностью работы и гарантирует получение высокоточных воспроизводимых результатов [Инструкция оператора системы (Operator manual) на Анализаторы Advia 2400].

*Определение концентрации общего белка*. Определение концентрации проводилось с помощью колориметрии – техники основанной на определении количества вещества путем оценки интенсивности окраски раствора. Биуретовый метод – один из колориметрических методов определения концентрации белка в растворе. Принцип метода составляет реакция белков с сульфатом меди в щелочной среде с образованием комплексных соединений, окрашенных в фиолетовый цвет. По окраске раствора, интенсивность которой пропорциональна концентрации белка, определяют содержание его в сыворотке крови. Измерения проводятся при длине волны 500 – 560 нм (зеленый светофильтр). Референтные значения 60,0–80,0 г/л [Инструкция оператора системы (Operator manual) на Анализаторы Advia 2400].

*Определение концентрации альбумина.* Определение концентрации альбумина, также как концентрации общего белка, в сыворотке крови производилось колориметрическим методом. Принцип метода основан на образовании окрашенного комплекса при взаимодействии альбумина с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде. Получившийся раствор имел максимум поглощения при длине волны 628 нм. Референтные значения 38,0–54,0 г/л [Инструкция оператора системы (Operator manual) на Анализаторы Advia 2400].

*Определение активности трансаминаз.* Определение проводилось с помощью кинетического метода – спектрофотомерии. Спектрофотометрия представляет собой метод анализа, принцип которого основан на измерении спектров поглощения. Чаще всего используются ультрафиолетовая и видимая части спектра. Активность АЛТ определяется по скорости уменьшения НАДН, измерение оптической плотности проводятся при 340 нм (в реакции с участием лактатдегидрогеназы).  Активность АСТ определяется по скорости уменьшения НАДН, измерение оптической плотности проводятся при 340 нм (с участием малатдегидрогеназы). Референтные значения АЛТ 5,0–40,0 Ед/л, референтные значения 5,0–38,0 Ед/л [Инструкция оператора системы (Operator manual) на Анализаторы Advia 2400].

*Определение концентрации С-реактивного белка*. Определение концентрации С-реактивного белка осуществлялось с помощью иммунотурбидиметрии. Данный метод основан на классической реакции антиген-антитело. Принцип метода основан на агглютинации СРБ и частиц латекса, покрытых антителами. Интенсивность агглютинации латексных частиц пропорциональна концентрации СРБ и измерялась турбидиметрически. Референтные значения СРБ составляли 0,00–8,00 мг/л [Инструкция оператора системы (Operator manual) на Анализаторы Advia 2400].

*Определение концентрации прокальцитонина.* Определение концентрации ПКТ осуществлялось на анализаторе IMMULITE 2000 XPi с помощью ферментативно-усиленной хемилюминесценции. Хемилюминесцентные методы анализа основаны на явлении хемилюминесценции. Для количественного определения вещества в растворе детектируется интенсивность свечения, которая пропорциональна концентрации исследуемого вещества. Референтные значения ПКТ составляли 0,00–0,50 нг/мл [Руководство пользователя Immulite 2000 XPi].

*Определение концентрации пресепсина.* Для определения концентрации ПСП использовался анализатор PATHFAST фирмы Mitsubishi (Япония). Анализ проводился с помощью иммунохемилюминисценции – количественный метод определения пресепсина, основанный на классической реакции антиген-антитело в комплексе с эффектом хемилюминесценции (свечением). Интенсивность свечения отражала количественное содержание ПСП в сыворотке крови. Регистрация люминесцентного сигнала производилась с помощью фотоумножителя. Референтные значения пресепсина составляли 60,0–320,0 нг/мл [Руководство пользователя PATHFAST].

# **2.3 Статистическая обработка данных**

Статистическая обработка данных включала методы описательной и вариационной статистики: среднее арифметическое ($\overbar{X}$), стандартное отклонение ( ± m), а также значимость различий (p). Все расчеты осуществлялись с помощью программы Microsoft office Excel 2010.

Таким образом материалом для исследования всех выбранных показателей служила сыворотка крови. Большинство показателей (АЛТ, АСТ, общий белок, альбумин и СРБ) исследовалось на биохимическом анализаторе ADVIA 2400. Использовались такие методы исследования как: фотометрия, турбидиметрия, иммунохемилюминисценция и др. Статистическая обработка данных включала определение таких показателей как: среднее арифметическое, стандартное отклонение и значимость различий.

# **3 Особенности изменения биомаркеров воспаления в процессе формирования септического процесса у больных в условиях стационара**

# **3.1 Изменения биохимических показателей при септическом процессе.**

#

Для исследования изменений биохимических показателей сыворотки крови в зависимости от тяжести септического процесса за основу была взята клиническая классификация сепсиса, предложенная согласительной конференцией Американского колледжа пульмонологов и Общества специалистов критической медицины, которая включает: синдром системного воспалительного ответа, сепсис, тяжелый сепсис и септический шок. Показатели при различных стадиях фиксировались каждые 2 дня.

# **3.1.1 Изменения биохимических показателей при первой стадии септического процесса**

Синдром системного воспалительного ответа является первой стадией формирования септического процесса, который в последствии может трансформироваться в сепсис при несостоятельности иммунной системы [Kumar, Kumar, Taneja, 2011]. Показатели сыворотки крови пациентов с ССВО представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Изменения биохимических показателей при первой степени тяжести септического процесса

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Биохимический показатель, n=15 | 1 сутки$\overbar{X}$ ± m | 3 сутки$\overbar{X}$ ± m | 5 сутки$\overbar{X}$ ± m | 7 сутки$\overbar{X}$ ± m | 9 сутки$\overbar{X}$ ± m | 11 сутки$\overbar{X}$ ± m |
| Общий белок (60,0–80,0 г/л) | 65,3 ± 2,0\* | 50,9 ± 2,3\*\* | 55,9 ± 1,8\*\* | 51,0 ± 1,9\*\* | 54,9 ± 1,2 | 53,7 ± 1,9\*\* |
| Альбумин (38,0–54,0 г/л) | 32,7 ± 2,0\*\* | 28,5 ± 1,6 | 28,7 ± 1,3 | 25,7 ± 1,2 | 25,3 ± 1,1 | 25,4 ± 1,0 |
| АЛТ (5,0–40,0 Ед/л) | 14,0 ± 0,9\*\*# | 20,7 ± 1,5\*# | 56,1 ± 1,8\*# | 20,3 ± 2,3# | 21,4 ± 1,9# | 21,6 ± 2,5# |
| АСТ (5,0–38,0 Ед/л) | 18,9 ± 1,4\*# | 33,4 ± 1,5\*# | 45,7 ± 3,0\* | 59,0 ± 3,5## | 52,1 ± 3,1\*# | 35,1 ± 1,2\* |
| Продолжение таблицы 2 |
| С-реактивный белок (0,0–8,0 мг/л) | 116,3 ± 2,3\*\* | 127,2 ± 3,3\* | 110,7 ± 2,9\* | 137,5 ± 2,7 | 134,3 ± 1,5 | 133,3 ± 2,1 |
| Прокальцитонин (0,0–0,5 нг/мл) | 16,8 ± 2,3^ |
| Примечания\* – p ≤  0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки^  –  p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов экспериментальной группы с показателями сыворотки крови пациентов соответствующей контрольной группы# – p ≤ 0,01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с второй степенью тяжести в соответствующие сутки## – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с второй степенью тяжести в соответствующие сутки |

Из данных таблицы 2 можно выделить, что концентрация альбумина и концентрация общего белка в сыворотке крови на протяжении практически всего исследования были понижены относительно референтных значений. Подобные результаты отмечались в исследованиях О. Д. Мишнёва, У. Н. Тумановой и А. И. Щеголева [2017]. По их мнению это связано с нарушением функционирования печени, так как именно она является основным местом синтеза белков крови [Мишнёв, Туманова, Щеголев, 2017].

Активность АЛТ в сыворотке крови пациентов в первые сутки нахождения в стационаре в среднем находилась в пределах референтных значений, к третьим суткам активность АЛТ повысилась и составила в среднем 20,7 ± 1,5 Ед/л, что незначительно превышает референтные значения. К пятым суткам активность АЛТ в сыворотке крови достоверно достигла максимальных средних значений, а именно 56,1 ± 1,8 Ед/л, а затем на седьмые и девятые сутки снизилась и находилась в пределах нормы.

Также из таблицы 2 можно отметить, что активность АСТ в сыворотке крови на первые сутки нахождения в стационаре составляла в среднем 18,9 ± 1,4 Ед/л, что соответствует нормальной концентрации, на вторые сутки активность АСТ значимо повысилась до 33,4 ± 1,5 Ед/л, что не выходит за верхнюю границу референтных значений. На пятые сутки активность АСТ в сыворотке крови значимо повысилась до 45,7 ± 3,0 Ед/л. На девятые сутки нахождения в стационаре больных в их сыворотке активность АСТ значимо повышалась до среднего значения 52,1 ± 3,1, а на 11 сутки достоверно снизилась до 35,1 ± 1,2 Ед/л, что находится в пределах референтных значений. Так можно отметить, что активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови была в среднем повышена на пятые и с пятых по девятые сутки соответственно. Это, возможно, происходит в связи с нарушением функций печени. Так как печень является одним из основных органов, поражаемых при септическом процессе, обеспечивая защиту организма от распространения инфекционных заболеваний. Клинико-биохимические проявления поражения печени во время формирования септического процесса характеризуются первоначальным повышением в сыворотке крови уровней активности трансаминаз с последующим снижением их уровней начиная с седьмых суток и нормализацией показателей, что совпадает с полученными нами данными [Мишнёв, Туманова, Щеголев, 2017].

Из таблицы 2 можно отметить, что концентрация СРБ в сыворотке крови у пациентов с ССВО за первые 11 суток превышала нормальные значения примерно в 12–16 раз, что говорит о наличии бактериальной инфекции и совпадает с результатами исследования В. В. Моррисона [2017]. Изменение уровня СРБ в сыворотке крови практически не отражает тяжесть протекания инфекционного процесса и мало говорит о его происхождении. СРБ относят к основным белкам острой фазы воспаления, так как его значение возрастает очень быстро (в первые 5–8 часов) и очень значительно (в 10–100 раз, а иногда и в 1000 раз). Поэтому измерение уровней СРБ широко применяется для мониторинга и контроля эффективности терапии бактериальных инфекций [Моррисон, 2017].

Если ССВО не осложнен инфекцией, то уровни концентраций ПКТ в сыворотке крови в сыворотке крови, как правило, ниже 1 нг/мл; а если значения ПКТ находятся в зоне 0,5–2 нг/мл, то невозможно точно установить сепсис. При повышении уровня ПКТ в сыворотке крови выше 2 нг/мл можно утверждать о наличии инфекционного процесса, сопровождающего системное воспаление [Вельков, 2009].

Исходя из данных таблицы 2 можно выделить, что среднее значение ПКТ в сыворотке крови в нашей выборке составляет 16,8 ± 2,3 нг/мл, что значительно превышает норму из чего можно сделать вывод, что у абсолютного большинства проанализированных пациентов ССВО сопровождался инфекционным процессом. Такие выводы совпадают с результатами исследования В. В. Велькова [2009], который отмечает, что бактериальные клетки являются наиболее сильными стимуляторами синтеза ПКТ и выхода его в кровоток и значительное повышение уровня ПКТ происходит сразу после накопления провосполительных цитокинов. Также следует учесть, что синтез ПКТ индуцируется не только жизнеспособными бактериальными клетками, но и их не живыми компонентами [Вельков, 2009].

Таким образом, при ССВО активность АЛТ в сыворотке крови превышала нормальные значения только на пятые сутки, активность АСТ превышала референтные значения с пятых по девятые сутки. Концентрации общего белка и альбумина в сыворотке крови были снижены относительно референтных значений на протяжении всего времени исследования (кроме концентрации общего белка в первые сутки). Значения СРБ и ПКТ в сыворотке крови значительно превышали референтные значения на протяжении всего времени исследования.

# **3.1.2 Изменения биохимических показателей при второй степени тяжести септического процесса**

Сепсис – системный ответ на подозреваемую или подтвержденную инфекцию, который сопровождается как минимум двумя критериями синдрома системного воспалительного ответа [Руднов, 2010]. Показатели сыворотки крови при сепсисе были подвержены первичной статистической обработке и представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Изменения биохимических показателей при второй стадии септического процесса

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Биохимический показатель, n=53 | 1 сутки$\overbar{X}$ ± m | 3 сутки$\overbar{X}$ ± m | 5 сутки$\overbar{X}$ ± m | 7 сутки$\overbar{X}$ ± m | 9 сутки$\overbar{X}$ ± m | 11 сутки$\overbar{X}$ ± m |
| Общий белок (60,0–80,0 г/л) | 59,7 ± 1,9\* | 55,2 ± 1,2## | 54,2 ± 1,2 | 53,4 ± 1,3 | 54,8 ± 1,4 | 55,9 ± 1,6 |
| Альбумин(38,0–54,0 г/л) | 29,3 ± 0,9\*\* | 27,8 ± 0,7\* | 25,8 ± 0,6 | 25,9 ± 0,6 | 25,6 ± 0,6 | 25,2 ± 0,6 |
| АЛТ (5,0–40,0 Ед/л) | 38,2 ± 0,6\* | 41,6 ± 0,6\* | 49,7 ± 0,6\* | 42,0 ± 0,7\* | 34,9 ± 0,8 | 33,2 ± 1,0\*\*# |
| АСТ (5,0–38,0 Ед/л) | 33,1 ± 0,8\*## | 38,1 ± 0,8\* | 45,3 ± 1,1\* | 36,7 ± 1,0 | 34,3 ± 1,2 | 36,0 ± 1,5 |
| С-реактивный белок (0,00–8,00 мг/л) | 148,6 ± 5,7 | 148,1 ± 5,0 | 139,5 ± 3,5 | 139,7 ± 3,4 | 112,9 ± 3,0 | 108,5 ± 2,8 |
| Прокальцитонин (0,00–0,50 нг/мл) | 20,7 ± 2,4^ |
| Примечания\* – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки^  –  p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов экспериментальной группы с показателями сыворотки крови пациентов соответствующей контрольной группы# – p ≤ 0,01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с третьей степенью тяжести в соответствующие сутки## – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с третьей степенью тяжести в соответствующие сутки |

Из таблицы 3 можно отметить снижение таких показателей как общий белок и альбумин в сыворотке крови в течение всех 11 суток, во время которых происходила фиксация результатов. Концентрация общего белка в сыворотке крови принимала наименьшие значения на третьи сутки и составляла 55,2 ± 1,2 г/л, концентрация альбумина принимала наименьшие значения на 11 сутки и составляла 25,2 ± 0,6 г/л. Такие изменения также связаны с протеканием патологических процессов в печени. Концентрация общего белка снижена, особенно за счет альбуминов [Орлова, Калистратова, Довгалюк, 2015].

Также из таблицы 3 следует, что такие показатели, как активность АЛТ в сыворотке крови значимо превышает референтные значения с третьих по седьмые сутки (от 41,6 ± 0,6 Ед/л до 49,7 ± 0,6 Ед/л), а также превышают значения при синдроме системного воспалительного ответа, представленные в таблице 2. Активность АСТ в сыворотке крови значимо превышает референтные значения с третьих по пятые сутки (от 38,1 ± 0,8 Ед/л до 45,3 ± 1,1 Ед/л). Также можно отметить, что активность АЛТ и АСТ подвержена тенденции повышения со первых по пятые сутки, а затем происходит незначительное снижение. Причина повышения активности трансаминаз такая же, как и во время ССВО, но при сепсисе поражения печени более глубокие, что отражено в повышении их уровня при сепсисе в отличии от их уровня при ССВО. Такие изменения связаны с тем, что эндотоксины бактерий активируют гепатоципы, которые секретируют ряд противовоспалительных цитокинов для повышения количества нейтрофилов. Метаболизм гепатоцитов изменяется (вследствие взаимодействия с медиаторами сепсиса) в сторону повышения захвата аминокислот и увеличения активности синтеза факторов свертывания крови, белков острой фазы и компонентов системы комплемента. Такие выводы совпадают с результатами, полученными О. Д. Мишнёвым, У. Н. Тумановой и А. И. Щеголевым [Мишнёв, Туманова, Щеголев, 2017].

Из таблицы 3 необходимо подчеркнуть, что концентрация СРБ в сыворотке крови значительно превышает допустимые значения, а также его уровни выше, чем ц пациентов с ССВО. Следует отметить, что концентрация СРБ в сыворотке крови пациентов контрольной группы тоже достаточно сильно превышает нормальные значения (от 55,4 мг/л до 144,4 мг/л). Из чего можно сделать вывод, что СРБ не является специфическим маркером формирования септического процесса. К таким выводам в своем исследовании пришли Н. Л. Рябкова и Н. Н. Везикова [2017] при изучении эволюции лабораторных маркеров системных бактериальных инфекций [Рябкова, Везикова, 2017].

На фоне воспаления или инфекции уровень СРБ значительно возрастает, иногда более, чем в 100 раз. Повышение уровня СРБ при системных бактериальных инфекциях является наиболее существенным [Pierrakos, 2010].

Концентрация ПКТ в сыворотке крови пациентов сильно превышает нормальные значение, а также превышает уровень ПКТ при ССВО и составляет 20,7 ± 2,4 нг/мл. Такое повышение связано с тем, что синтез ПКТ инициируется воздействием бактериальных токсинов, концентрация которых пропорционально увеличивается с увеличением степени тяжести септического процесса. Можно полагать, что при концентрации ПКТ выше 2 нг/мл развитие сепсиса неизбежно, что совпадает с нашими результатами и результатами исследования М. Л. Ромашевой и Д. Г. Прошина [2007].

Таким образом при сепсисе активность АЛТ и АСТ превышала нормальные значения с третьих по седьмые сутки и с третьих по пятые сутки, соответственно. Концентрации общего белка и альбумина были понижены относительно референтных значений на протяжении всего времени исследования. Значения С-реактивного белка и прокальцитонина превышали референтные значения, а также значения этих показателей при ССВО на протяжении всего времени исследования.

# **3.1.3 Изменения биохимических показателей при третьей стадии септического процесса**

Тяжелый сепсис – сепсис, который сочетается с несколькими признаками органной дисфункции, а также нарушением тканевой перфузии и другими осложнениями. Принципиальным различием понятия «тяжелый сепсис» от «сепсиса» является степень поражения органов и систем, а также нарушения их функции [Samraj, Zingarelli, Wong, 2013].

Данные показателей больных с тяжелым сепсисом представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Изменения биохимических показателей при третьей стадии септического процесса

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Биохимические показатели, n=17 | 1сутки$\overbar{X}$ ± m | 2 сутки$\overbar{X}$ ± m | 5 сутки$\overbar{X}$ ± m | 7 сутки$\overbar{X}$ ± m | 9 сутки$\overbar{X}$ ± m | 11 сутки$\overbar{X}$ ± m |
| Общий белок (60,0–80,0 г/л) | 59 ± 3,4\* | 49,6 ± 2,6 | 50,98 ± 1,6 | 51,3 ± 1,9 | 49,98 ± 3,4 | 48,7 ± 2,2\*\* |
| Продолжение таблицы 4 |
| Альбумин (38,0–54,0 г/л) | 30,4 ± 2,3 | 26,4 ± 1,3 | 25,9 ± 1,5 | 25,4 ± 1 | 25,4 ± 1,1 | 23,5 ± 1,4\* |
| АЛТ (5,0–40,0 Ед/л) | 38,9 ± 1,1 | 40,6 ± 1,3\* | 51,5 ± 1,8\* | 42,1 ± 1,3 | 37,1 ± 1,7 | 39,4 ± 1,9 |
| АСТ (5,0–38,0 Ед/л) | 37,4 ± 1,1 | 39,1 ± 1,9\*\* | 45,4 ± 1,9\*\* | 38,1 ± 1,6 | 37,8 ± 2,1 | 36,7 ± 2,3 |
| С-реактивный белок (0,00–8,00 мг/л) | 135,1 ± 5,7\* | 160,7 ± 5,4 | 157,1 ± 5,3 | 159,3 ± 5,9 | 146,9 ± 5,5 | 148,3 ± 5,5 |
| Прокальцитонин (0,00–0,50 нг/мл) | 22,4 ± 3,2^ |
| Примечания\* – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки^  –  p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов экспериментальной группы с показателями сыворотки крови пациентов соответствующей контрольной группы# – p ≤ 0,01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с четвертой степенью тяжести в соответствующие сутки## – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с четвертой степенью тяжести в соответствующие сутки |

Сравнив показания значений общего белка и альбумина при сепсисе, представленными в таблице 3 и при тяжелом сепсисе, представленными в таблице 4, можно отметить, что их разница не значительна и практически не обладает значимостью различий. Концентрация общего белка принимала наименьшие значения на 11 сутки и составляла 48,7 ± 2,2 г/л, а концентрация альбумина принимала наименьшие значения также на 11 сутки и составляла 23,5 ± 1,4. Во всех случаях септического процесса эти показатели находятся ниже пределов нижней границы нормы, что всегда связано с протеканием патологических процессов в печени.

Из таблицы 4 можно отметить, что активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови пациентов практически не выходит за пределы референтных значений. Это не совпадает с результатами исследователей и, возможно, связано с недостаточным количеством исследуемого материала.

Значение ПКТ при тяжелом сепсисе составляет в среднем 22,4 ± 3,2 нг/мл, а при сепсисе 20,7 ± 2,4 нг/мл, эти значения имеют статистически значимые различия по сравнению со значениями контрольной группы, но не имеют статистически значимых различий между собой. Это показывает то, что нельзя оценить тяжесть септического процесса опираясь только на значения ПКТ.

Из таблиц 3 и 4 можно отметить, что значения СРБ в сыворотке крови пациентов при тяжелом сепсисе незначительно отличается от его значений при сепсисе.

Таким образом, из всего вышеперечисленного можно сделать вывод, что стадии сепсиса и тяжелого сепсиса отличаются не столько изменением динамики биохимических показателей, сколько тяжестью патологических процессов в различных органах и системах организма, что подтверждается и отсутствием статистической значимости между значениями показателей этих стадий.

# **3.1.4 Изменения биохимических показателей при четвертой стадии септического процесса**

Септический шок – состояние, связанное с вызванной сепсисом гипотензией, имеющей место, несмотря на адекватное восполнение жидкости и гипоперфузии органов и тканей [Струков, Александрович, Васильев, 2014]. Шок может стать необратимым, если организм не отвечает на необходимые лечебные мероприятия для поддержания жизнеспособности. Бывают случаи, когда удается стабилизировать гемодинамику, но отек головного мозга, который быстро прогрессирует, определяет летальный исход [Кулагин, 2017].

 Показатели пациентов с септическим шоком представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Изменения биохимических показателей при четвертой стадии септического процесса

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Биохимические показатели n=15 | 1 сутки$\overbar{X}$ ± m | 3 сутки$\overbar{X}$ ± m | 5 сутки$\overbar{X}$ ± m | 7 сутки$\overbar{X}$ ± m | 9 сутки$\overbar{X}$ ± m | 11 сутки$\overbar{X}$ ± m |
| Общий белок (60,0–80,0 г/л) | 30,4 ± 2,2 | 27,4 ± 1,6 | 27,9 ± 0,8 | 26,1 ± 1,3 | 26,3 ± 1,3 | 25,3 ± 1,6\* |
| Альбумин (38,0–54,0 г/л) | 60,4 ± 3,3\*\* | 53,7 ± 2,8 | 50,3 ± 2,4 | 51,7 ± 1,9 | 50,9 ± 1,6 | 48,4 ± 2,3\* |
| Продолжение таблицы 5 |
| АЛТ (5,0–40,0 Ед/л) | 40,8 ± 1,5# | 43,3 ± 1,7\* | 50,4 ± 1,2\*## | 43,5 ± 1,6\*# | 37,4 ± 1,6# | 38,2 ± 2,2# |
| АСТ(5,0–38,0 Ед/л) | 36,4 ±  1,2# | 36,2 ± 1,9\*\*# | 40,9 ±  1,3# | 36,2 ± 1,9# | 36,4 ± 1,9# | 38,7 ± 2,1 |
| С-реактивный белок (0,0–8,0 мг/л) | 151,5 ± 6,9 | 135,6 ± 6,2\*\* | 159,5 ± 6,6 | 151,3 ± 5,9 | 151,4 ± 4,8 | 154,6 ± 5,8 |
| Прокальцитонин (0,0–0,5 нг/мл) | 24,5 ± 2,7^ |
| Примечания\* – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови пациентов в последующие исследуемые сутки^ – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов экспериментальной группы с показателями сыворотки крови пациентов соответствующей контрольной группы# – p ≤ 0,01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с первой степенью тяжести в соответствующие сутки## – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с данной степенью тяжести с показателями сыворотки крови пациентов с первой степенью тяжести в соответствующие сутки |

Сравнивая показатели альбумина в сыворотке крови при тяжелом сепсисе и септическом шоке можно отметить, что при септическом шоке они значительно выше и находятся в пределах референтных значений, но эти различия не обладают статистической значимостью различий. Наименьшие значения концентрация общего белка в сыворотке крови больных принимала на 11 сутки и составляла 25,3 ± 1,6 г/л, а концентрация альбумина – на 11 сутки и составляла 48,4 ± 2,3 г/л.

Из таблицы 5 можно отметить, что показатели активности АЛТ в сыворотке крови пациентов превышают нормальные значение с первых по седьмые сутки (наибольшее значение на пятые сутки 50,4 ± 1,2 Ед/л). Также из таблицы 5 можно отметить, что активность АСТ в сыворотке крови пациентов находилась в пределах референтных значений, за исключением пятых и одиннадцатых суток (наибольшая активность на пятые сутки и составляла 40,9 ± 1,3 Ед/л). Повышение концентрации АСТ в сыворотке крови больных при септическом шоке отмечали в своих работах и другие исследователи [Мишнёв, Туманова, Щеголев, 2017].

При сравнении активности АЛТ и АСТ в сыворотке крови пациентов с первой и четвертой степенями тяжести септического процесса, было обнаружено статистически значимое повышение активности при четвертой степени тяжести. Это связано с намного более значимыми патологическими процессами в печени при септическом шоке, по сравнению с системным воспалительным ответом.

Значение ПКТ при септическом шоке значительно выше, чем при других стадиях септического процесса. В. В. Вельков [2012] в своем исследовании «Прокальцитонин и С-реактивный белок в диагностике критических состояний» пришел к выводу, что показатели ПКТ при септическом шоке достигают самых критических значений по сравнению с другими стадиями, что совпадает с нашими результатами [Вельков, 2012].

Таким образом динамика изменения показателей активности аминотрансфераз в сыворотке крови указывает на нарушение нормального функционирования печени, но не отражает степень тяжести септического процесса. Наибольшая активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови больных наблюдалась при синдроме системного воспалительного ответа на пятые (56,1 ± 1,8Ед/л) и седьмые (59,0 ± 3,5 Ед/л) сутки соответственно. Наименьшие показатели активности АЛТ и АСТ наблюдались при синдроме системного воспалительного ответа на первые сутки (14,0 ± 0,9 Ед/л и 18,9 ± 1,4 Ед/л соответственно). Изменения показателей концентрации общего белка и альбумина в сыворотке крови указывают на нарушение белоксинтетической функции печени, но также не отражает степени тяжести септического процесса. Наименьшие показатели концентрации альбумина наблюдались при тяжелом сепсисе на 11 сутки (23,5 ± 1,4 г/л), а наименьшие концентрации общего белка наблюдались при септическом шоке на 11 сутки (25,3 ± 1,6 г/л). Наибольшие концентрации общего белка наблюдались при ССВО на первые сутки (65,3 ± 2,0 г/л), а наибольшие концентрации альбумина наблюдались при септическом шоке на первые сутки (60,4 ± 3,3 г/л). Изменение уровня СРБ в процессе формирования септического процесса отражает наличие воспалительного процесса в организме больного, но не указывает на природу его происхождения и слабо отражает степень тяжести септического процесса. Наименьшие средние концентрации СРБ наблюдались при сепсисе на 11 сутки (108,5 ± 2,8 мг/л), а наибольшие при тяжелом сепсисе на третьи сутки (160,7 ± 5,4мг/л). Показатели концентрации ПКТ в первые сутки нахождения в стационаре указывают на наличие бактериальной инфекции и отражают степень тяжести септического процесса. Наименьшие средние значения ПКТ отмечались при синдроме системной воспалительной реакции (16,8 ± 2,3 нг/мл), а наибольшие – при септическом шоке (24,5 ± 2,7 нг/мл).

# **3.2 Изменения биохимических показателей при хирургическом сепсисе различной локализации**

Следуя поставленной задаче нами была исследована сыворотка крови больных с диагнозом «хирургический сепсис».

Динамика показателей альбумина и общего белка при хирургическом сепсисе различной локализации представлена на рисунке 1.

|  |
| --- |
| Примечания\* – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови последующих исследуемых суток\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови последующих исследуемых суток# – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом в кардиологии и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ## – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом в кардиологии и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ~~ – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в кардиохирургии |

Рисунок 1 – Изменения концентраций альбумина и общего белка при хирургическом сепсисе различной локализации

Из рисунка 1 следует отметить, что показатели альбумина во всех трех случаях находятся ниже референтных значений (38,0–54,0 г/л). Самые низкие значения альбумина и общего белка наблюдались при хирургическом сепсисе в кардиологии. По нашему мнению, подобные изменения возникают из-за того, что компоненты патогенетического каскада септического процесса, связанного с проведением операции на сердце, ведут к тканевой гипоксии, повышению проницаемости сосудисто-капиллярного русла, вследствие чего сильнее нарушается нормальное функционирование печени, и в результате нарушается ее возможность синтезировать оптимальное количество белков крови, в частности альбумина (из-за понижения которого снижается и концентрация общего белка).

Также из рисунка 1 можно отметить, что высокие значения концентраций альбумина и общего белка в сыворотке крови пациентов наблюдались при хирургическом сепсисе после операций в области желудочно-кишечного тракта. Возможно причины таких изменений связаны с наименьшим воздействием на печень при сепсисе, развивающимся после операции в области ЖКТ, но исследований по данной проблеме найдено не было.

Динамика активности АЛТ и АСТ при сепсисе различной локализации представлена на рисунке 2.

Примечания

|  |
| --- |
| \*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови последующих исследуемых суток# – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом в кардиологии и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ## – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом в кардиологии и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ^ – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких^^ – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких~~ – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в кардиохирургии |

Рисунок 2 – Изменения биохимических показателей АЛТ и АСТ при хирургическом сепсисе различной локализации

Из рисунка 2 необходимо подчеркнуть, что высокие значения активность АСТ в сыворотке крови пациентов принимает при хирургическом сепсисе после операций в кардиохирургии. Исследований по данной тематике немного, но возможно такие изменения связаны с тем, что сердце, помимо того, что служит входными воротами для инфекции после операции в этой области, является одним из основных органов-мишеней септического процесса. Появление сердечной недостаточности – одно из частых осложнений, которое приводит к формированию более сильных степеней тяжести, таких как тяжелый сепсис и септический шок. Следует отметить, что наивысшие значения при операциях на сердце принимают не только значения активности АСТ, но и активность АЛТ, что можно увидеть на рисунке 2. Это можно объяснить тем, что наиболее тяжелые осложнения сепсиса (тяжелый сепсис и септический шок) приводят к наибольшим повреждениям печени и, следовательно, наибольшим повышением активности трансаминаз. Стоит отметить и то, что практически все значения активности АСТ при хирургическом сепсисе после операций в области легких превышают нормальные значения.

Также из рисунка 2 следует подчеркнуть, что наименьшие значения активности АЛТ в сыворотке крови пациентов принимали при хирургическом сепсисе после операций на ЖКТ, также, как и значения наименьшие значения активности АСТ. Исследований по данному вопросу нами найдено не было. Можно предположить, что подобное оперативной вмешательство менее критически воздействует на основные системы организма и компенсаторные механизмы способны поддерживать уровни трансаминаз в норме.

Исследования ПКТ при возникновении хирургического сепсиса различной локализации является первостепенными и одним из основных маркеров сепсиса, динамика которых отражает тяжесть заболевания. Исследователи отмечают, что С-реактивный белок не может рассматриваться как надежный ранний маркер сепсиса, что обусловлено, вероятно, особенностями его динамики в послеоперационном периоде.

Изменения С-реактивного белка и показатели прокальцитонина в первые сутки при хирургическом сепсисе различной локализации представлены на рисунке 3.

Примечания

|  |
| --- |
| \* – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови последующих исследуемых суток\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов в данные сутки с показателями сыворотки крови последующих исследуемых суток# – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом в кардиологии и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ^ – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких^^ – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области ЖКТ и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких~ – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в области легких и показателей сыворотки крови пациентов с хирургическим сепсисом после операций в кардиохирургии |

Рисунок 3 – Изменения С-реактивного белка и показатели прокальцитонина при хирургическом сепсисе различной локализации

Из рисунка 3 необходимо отметить, что высокие значения СРБ наблюдаются при хирургическом сепсисе после операций в области желудочно-кишечного тракта, а наименьшие при хирургическом сепсисе в кардиохирургии. Исследований по данной теме немного, но возможно такие изменения связаны с обширностью операции и тяжестью послеоперационного периода, так как повышение концентрации СРБ зависит не только от тяжести септического процесса, но и от объема хирургического вмешательства.

Из рисунка 3 можно отметить, что наименьшее среднее значение ПКТ в сыворотке крови пациентов наблюдается при хирургическом сепсисе после операции в области легких. Во время протекания септического процесса синтез ПКТ осуществляется нейроэндокринными клетками печени, почек, легких, мышечной ткани, адипоцитами, что приводит к значительному повышению его уровня. Возможно при нарушении функционирования легких нарушается и синтез ПКТ и высвобождение его в кровеносное русло. Средние значения ПКТ при хирургическом сепсисе после операций на область ЖКТ и в кардиохирургии практически равны и составляют 22,2 нг/мл и 20,7 нг/мл соответственно.

Таким образом изменение биохимических показателей АЛТ и АСТ при хирургическом сепсисе указывают на то, что наибольшие нарушения функционирования печени происходят после операций в кардиохирургии, так как наибольшие значения данных показателей наблюдались после подобных операций (42,7 ± 7,8 Ед/л и 48,6 ± 7,7 Ед/л соответственно). Изменения концентрации альбумина и общего белка в сыворотке крови при хирургическом сепсисе указывает на то, что более сильное нарушение белоксинтетической функции печени возникает также после операций в кардиохирургии. На это указывают наименьшие значения концентрации данных показателей на пятые сутки (23,4 ± 2,2 г/л и 51 ± 1,5 г/л соответственно). Наименьшее нарушение белоксинтетической функции печени наблюдается при хирургическом сепсисе после операций в области желудочно-кишечного тракта, на что указывают наибольшие значения данных показателей на первые (33,0 ± 2,5 г/л и 65,4 ± 4,4 г/л соответственно). Концентрация СРБ при хирургическом сепсисе сильнее всего превышает норму после операций в области ЖКТ на седьмые сутки (182,4 ± 4,7 мг/л), а меньше всего – при хирургическом сепсисе в кардиохирургии на 11 сутки (136,0 ± 5,7 мг/л). Наименьшее среднее значение ПКТ в первые сутки наблюдается при хирургическом сепсисе после операций в области легких (5,7 ± 0,8 нг/мл), а средние значения ПКТ при хирургическом сепсисе после операций в области ЖКТ и кардиохирургии практически равны (22,7 ± 2,3 нг/мл и 20,7 ± 1,3 нг/мл соответственно).

# **3.3 Сравнение значений биомаркеров воспаления в процессе формирования септического процесса**

При наличии очага или источника инфекции и несостоятельности барьерных и регулирующих механизмов и генерализации процесса, в организме развивается синдром системного воспалительного ответа, который в последствии трансформируется в сепсис при несостоятельности иммунной системы [Namas, Zamora, 2012]. Присутствие бактерий и бактериальных компонентов инициирует и поддерживает дополнительные метаболические, воспалительные, иммунологические и коагуляционные реакции. Это демонстрируется большим количеством комплемента и коагуляционных белков при воспалительном процессе. Такие биохимические реакции могут служить в качестве биомаркеров для раннего выявления активного воспаления и для дифференцирования между последующими стадиями системного воспалительного ответа, такими как сепсис и септический шок. При несостоятельности иммунной реактивности и несвоевременном лечении, воспалительная реакция организма в ответ на инфекцию или повреждение ведет к повреждению собственных тканей и органов и это приводит к сепсису с полиорганной недостаточностью и септическому шоку [Гусев, 2001]. При поступлении пациента необходимо сначала выявлять ранние признаки ССВО и предотвращать развитие тяжелых последствий. Своевременная диагностика и ранняя терапия инфекции предотвращает развитие сепсиса. Современная диагностика сепсиса включает в себя, в первую очередь, исследование биомаркеров воспаления, таких как: С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин [Pierrakos, Vincent, 2010].

Данные о значении биомаркеров воспаления в первые сутки после поступления в стационар представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Сравнение значений биомаркеров воспаления в первые сутки после поступления больного в стационар

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Основная группа | Биомаркер воспаления | Количество пациентов | Значение показателя | Референтные значения |
| С-реактивный белок (мг/л) | 105 | 168,6 ± 4,6 | 0,00–8,00  |
| Прокальцитонин (нг/мл) | 105 | 18,02 ± 2,0\* | 0,00–0,50  |
| Пресепсин (нг/мл) | 20 | 842,5 ± 48,4\* | 60,0–320,0  |
| Контрольная группа | С-реактивный белок (мг/л) | 70 | 176,0 ± 4,3 | 0,00–8,00  |
| Прокальцитонин (нг/мл) | 70 | 1,8 ± 0,3\* | 0,00–0,50  |
| Пресепсин (нг/мл) | 20 | 202,1 ± 9,8\* | 60,0–320,0  |
| Примечания\* – p ≤ 0.01 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов данной группы с показателями сыворотки крови пациентов соответствующей контрольной группы\*\* – p ≤ 0.05 значимость различий показателей сыворотки крови пациентов данной группы с показателями сыворотки крови пациентов соответствующей контрольной группы |

*С-реактивный белок.* Любое повреждение тканей можно определить по неспецифическому «золотому» маркеру воспаления С-реактивному белку. В течение первых часов заболевания обычно происходит резкое повышение концентрации СРБ в крови. Таким образом, СРБ в крови является самым первым признаком инфекционного процесса, способный отражать его интенсивность. При воспалениях различного генеза уровень СРБ может повышаться более чем в 20 раз. Диагностическая цель определения данного показателя – подтверждение наличия инфекции, также контроль за ним необходим для мониторинга заболеваний [Клинико-диагностическое значение…, 2015].

С-реактивный белок обладает высокой диагностической значимостью при определении воспалительных процессов, протекающих в организме, но в качестве биомаркера сепсиса его значение незначительно. Дело в том, что повышенная концентрация СРБ в крови больного говорит только о наличии воспалительного процесса, но не о причине его возникновения.

Из таблицы 6 можно увидеть, что значения СРБ в сыворотке крови значительно превышали норму как в основной группе (в 21 раз), так и в контрольной (в 22 раза) относительно референтных значений. Это связано с тем, что для контрольной группы были проанализированы лабораторные данные пациентов стационара, у которых повышение концентрации СРБ в сыворотке крови связано с воспалениями, не имеющими отношения к септическому процессу. Из этого можно сделать вывод о том, что СРБ в крови пациента не является показательным биомаркером для выявления септического процесса. К таким же выводам пришли Е. В Токарева и др. [2015] в работе «Определение пресепсина и других маркеров воспаления в диагностике панкреонекрозов и сепсиса» [Определение пресепсина и других…, 2015].

Несмотря на низкую специфичность СРБ, он продолжает изучаться и использоваться, особенно в сочетании с другими показателями, в качестве одного из критериев диагностики системной бактериальной инфекции у пациентов в отделениях неотложной помощи в связи с доступностью этого теста по сравнению с новыми и более специфичными.

*Прокальцитонин*. В значительной мере уровень ПКТ в сыворотке крови повышается у пациентов с сепсисом (особенно при тяжелом сепсисе/септическом шоке). Уровень ПКТ в сыворотке крови повышается в течение 6-12 часов после генерализации инфекции. Синтез ПКТ стимулируется бактериальными экзо и эндотоксинами с участием цитокинов. При этом не происходит увеличения уровня кальцитонина [Информативность различных биохимических…, 2015].

Из таблицы 6 можно отметить, что значения ПКТ при септическом процессе значительно превышали значения ПКТ в сыворотке крови пациентов в контрольной группе (в 10 раз) и референтные значения (в 36 раз). В контрольной группе значения ПКТ незначительно превышают норму, уровень ПКТ от 0,5 нг/мл до 2 нг/мл находится в «серой зоне», в которой диагноз сепсиса поставить нельзя. В этих случаях рекомендуется повторить анализ через 6–24 часа. Тест на ПКТ используется также в качестве контроля эффективности терапии при сепсисе, а также в качестве прогностического маркера. К подобным выводам пришла и Б. Т. Муздубаева [2017] в работе «Роль биомаркеров воспаления в диагностике и лечении сепсиса» [Муздубаева, 2017].

*Пресепсин* – это гуморальный белок, выделяемый в циркуляцию фагоцитами при фагоцитозе. ПСП – это циркулирующий белок, концентрация которого в крови быстро возрастает при развитии системных инфекций, сепсиса, тяжелого сепсиса и септического шока [Endo, Suzuki, Takahashi, 2013]. При индукции системных воспалений повышение ПСП происходит раньше и быстрее, чем повышение других маркеров сепсиса. Специальные исследования показали, что ПСП повышается при грамположительных, грамотрицательных и грибковых инфекциях, но практически не повышается при вирусных [Okamura, Yokoi, 2011].

Из таблицы 6 можно отметить, что значения ПСП в основной группе значительно превышали как значения ПСП в сыворотке крови пациентов в контрольной группе (в четыре раза), так и референтные значения (в 14 раз). Схожие результаты получил Вельков В.В. в 2016 году в работе «Пресепсин – новый высокоэффективный биомаркер сепсиса».

Пресепсин может служить новым высокоспецифичным и высокочувствительным маркером сепсиса, поскольку раньше и быстрее, чем другие известные маркеры, отражает его динамику [Вельков, 2016].

 Главное преимущество определения пресепсина в отличие от прокальцитонина в том, что концентрация ПСП повышается быстрее, чем концентрация ПКТ, это связано с иным механизмом образования. Основной проблемой повсеместного использования пресепсина для диагностики и мониторинга лечения сепсиса является дороговизна его определения. В то время как определение ПКТ намного более бюджетное и также обладает высокой показательностью [Zou, Wen, Zhang, 2014].

Таким образом СРБ обладает высокой значимостью при определении воспалительных процессов, протекающих в организме, но в качестве биомаркера сепсиса его значение незначительно. Это доказано тем, что значения СРБ в сыворотке крови значительно превышали норму как в основной (в 21 раз), так и в контрольной (в 22 раз) относительно референтных значений. Самыми большими отклонениями при сепсисе обладала концентрация ПКТ в сыворотке крови, которая превышает референтные значения в 36 раз и значения в конрольной группе в 3,6 раз, из чего следует, что ПКТ является показательным маркером диагностики сепсиса. Пресепсин также является показательным маркером сепсиса, его концентрация в сыворотке крови превышала референтные значения почти в 14 раз относительно верхней границы и в четыре раза превышала значения в контрольной группе.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Современными биомаркерами воспаления являются: С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин. Выделяют четыре стадии формирования септического процесса: синдром системного воспалительного ответа, сепсис, тяжелый сепсис, септический шок. Частным случаем септического ответа является хирургический сепсис, который возникает в ответ на операционное вмешательство и область проведения операции становится входными воротами инфекции.

1. Концентрации альбумина и общего белка в сыворотке крови больных при всех стадиях септического процесса были понижены относительно референтных значений практически на протяжении всего периода исследования. Активности АСТ и АЛТ достигали максимальных концентраций на пятые сутки первой стадии септического процесса. Значения СРБ в сыворотке крови при всех стадиях септического процесса значительно превышали референтые значения на протяжении всего исследования. Наибольшие значения СРБ наблюдались на третьи сутки третьей степени тяжести септического процесса, наименьшие – на первые сутки первой тяжести септического процесса. Значения ПКТ в первый день нахождения больного в стационаре значительно превышали референтые значения на всех тяжестях септического процесса. Наибольшие значения ПКТ наблюдались на четвертой стадии, наименьшие – на первой стадии септического процесса;
2. Значимые изменения концентраций альбумина и общего белка наблюдались при хирургическом сепсисе после кардиоопераций. При хирургическом сепсисе значимые изменения активности АЛТ и АСТ наблюдались после операций в кардиохирургии на 11 и пятые сутки нахождения в стационаре, соответственно. Концентрация СРБ при хирургическом сепсисе значительнее превышает норму после операций в области ЖКТ на седьмые сутки. Наиболее значимые повышения ПКТ наблюдались при хирургическом сепсисе после операций в области ЖКТ и кардиохирургии;
3. Значения СРБ основной группы не превышают значения СРБ контрольной группы. Значения ПКТ основной группы превышают значения ПКТ контрольной группы в 10 раз. Значения ПСП основной группы превышают значения ПСП контрольной группы в четыре раза.

Таким образом, были определены изменения биомаркеров воспаления в сыворотке крови больных в процессе формирования септического процесса в условиях стационара.

# **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Абелевич, А. И. Хирургический сепсис: современное состояние проблемы / А. И. Абелевич // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 2. – С. 135–139. – ISSN 2076-4243.
2. Авдеева, М. Г. Инфекционный процесс и системный воспалительный ответ / М. Г. Авдеева, В. В.Лебедев, М. Г. Шубич. – Нальчик: ООО «Полиграфсервис и Т», 2010. – 69 с. – ISBN 593-680-420-8.
3. Бархатова, Н. А. Определение концентрации С-реактивного белка, олигопептидов и лактоферрина крови как метод ранней диагностики мезенхимального сепсиса / Н. А.  Бархатова // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. –  2009. – С. 45–48. – ISSN 0042-4625.
4. Белобородова, Н. В. Сепсис: новый взгляд на проблему / Н. В. Белобородова // Терапевтический архив. – 2013. – № 11. – С. 82–9. – ISSN 0040-3660.
5. Биохимические маркеры системной воспалительной реакции: роль прокальцитонина в диагностике сепсиса / Б. Р. Гельфанд, С. З. Бурневич, Е. Б. Гельфанд. [и др.] // Инфекции в хирургии. – 2007. – Т. 5, – № 1. – С. 17–24. – ISSN 2220-2412.
6. Вельков, В. В. Прокальцитонин и С-реактивный белок в современной лабораторной диагностике. Часть 1 / В. В. Вельков // Клинико-лабораторный консилиум. – 2008. – № 6(25). – С. 46–52. – ISSN 2077-5059.
7. Вельков, В. В. Прокальцитонин и С-реактивный белок в современной лабораторной диагностике. Часть 2 / В. В. Вельков // Клинико-лабораторный консилиум. – 2009. – № 1(26). – С. 34–48. – ISSN 2077-5059.
8. Вельков, В. В. Пресепсин – новый высокоэффективный биомаркер сепсиса (обзор) / В. В. Вельков // Клинико-лабораторный консилиум. – 2012. – № 2(42). – С. 56–62. – ISSN 2077-5059.
9. Вельков, В. В. Пресепсин – эффективный биологический маркер для диагностики сепсиса и мониторинга системных инфекций / В. В. Вельков // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2016. – № 1(64). – С. 4–21. – ISSN 2075-4108.
10. Винтер, В., Сепсис и полиорганная недостаточность – патофизиология и актуальные концепции лечения / В. Винтер, Е. Чеслик, А. Заблоцкий // Анестезиология и реаниматология. – 2007. – № 5. – С. 66–72. – ISSN 2410-4698.
11. Гусев, Е. Ю. Иммунология системного воспаления / Е. Ю. Гусев // Иммунология Урала. – 2001. – № 1. – C. 4–8. – ISSN 2073-9125.
12. Диагностическая ценность определения уровня прокальцитонина в практике инфекциониста / А. С. Полякова, М. Д. Бакрадзе, В. К. Таточенко [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2017. – № 16 (4). – С. 334–341. – ISSN 1682-5535.
13. Диагностические и прогностические возможности прокальцитонина и С-реактивного белка при различных инфекционно-воспалительных процессах у детей / Е. В. Гиматдинова, Р. М. Хайруллина, М. И. Гарипова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 10 (часть 2). – С. 280–282. – ISSN 1812-7339.
14. Егиазарян, М. И. Диагностическая роль критериев синдрома системной воспалительной реакции в отделении интенсивной терапии / М. И. Егиазарян, М. М. Мириджанян, Г. Р. Акопян // Анестезиология и реаниматология. – 2009. – № 3. – С. 43–48. – ISSN **0201-7563.**
15. Информативность различных биохимических маркеров сепсиса: литературные и собственные данные / А. П. Колесниченко, Н. А. Мосякин, Ю. С. Распопин [и др.]  //  Сибирское медицинское обозрение. –  2015.  –  № 4. –  С. 11–17. – ISSN 1819-94-96.
16. Карпов, И. А. Сепсис: современные клинические аспекты проблемы / И. А. Карпов, Е. Ф. Качанко, Н. Н. Юровский // Здравоохранение. – 2006. –№ 9. – С. 35–40. – ISSN 1028-9771.
17. Кишкун, А. А. Клиническая лабораторная диагностика / А. А. Кишкун. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, – 2012. – 720 с. – ISBN 978-5-9704-1550-4. 978-5-9704-1550-4.
18. Клинико-диагностическое значение уровня прокальцитонина у пострадавших с тяжёлой сочетанной травмой / Ю. С. Полушин, А. А. Афанасьев, Л. П. Пивоварова [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2015. – Т. 12. –№ 1. – С. 46–53. – ISSN 2541-8653.
19. Козлов, В. К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии / В. К. Козлов. – СПб.: «Диалект», 2006. – 304 с. – ISBN 5-98230-030-6.
20. Козлов, В. К. Сепсис, тяжелый сепсис, септический шок: патогенетическое обоснование диагноза, клиническая интерпретация, принципы и методология диагностики / В. К. Козлов // Клинико-лабораторный консилиум. – 2014. – №2 (49). – С. 20–41. – ISSN 2077-5059.
21. Лелевич, С. В. Основы клинической биохимии / С. В. Лелевич. –Гродно: ГрГМУ, 2013. – 184 с. – ISBN 978-985-558-234-3.
22. Медведев, В. В. Клиническая лабораторная диагностика / В. В. Медведев. – СПб: Гиппократ, 2006. – 360 с. – ISBN 6-8232-0028-5.
23. [Мор, Л. Дж.](https://www.rmj.ru/authors/mor_l_dzh/)Сепсис в общей хирургии: смертельное осложнение / Л. Дж. Мор, Ф. A. Мор, С. Л. Джонс // Русский медицинский журнал. –  2010. –  № 21. – С. 12–61. – ISSN 2225-2282.
24. Моррисон, В. В., Значение определения концентрации прокальцитонина плазмы крови в диагностике септических состояний / В. В. Моррисон  //  Саратовский научно-медицинский журнал. –  2017. – Том 6. –  № 2. С. 261-267. – ISSN 1995-0039.
25. Морозов, Ю. А. Биомаркеры и тест-системы лабораторной диагностики сепсиса / Ю. А. Морозов, Т. В. Марченко // Современная лаборатория. – 2012. – № 2. – С. 13–9. – ISSN 2072-3199.
26. Муздубаева, Б. Т. Современная классификация сепсиса / Б. Т. Муздубаева // Вестник КазНМУ. – 2017. – № 1. – С. 126–129. – ISSN 2524-0684.
27. Мишнёв, О. Д. Патология печени при сепсисе / О. Д. Мишнёв, У. Н. Туманова, А. И. Щеголев // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – № 8–2. – С. 267–271. – ISSN 1996-3955.
28. Окамура, И. Пресепсин: новый биомаркер для прогнозирования и диагностики сепсиса  /  И.  Окамура, Р. Томэ // Лаборатория. –  2014. – № 1. –  С. 9–10. – ISSN 0321-4265.
29. Определение пресепсина и других маркеров воспаления в диагностике панкреонекрозов и сепсиса / Е. В. Токарева, О. Л. Фурман, А. Ю. Прогрессов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 7. – С. 1–3. – ISSN 0869-2084.
30. Особенности диагностики сепсиса в практике врача-инфекциониста / М. Г. Авдеева, В. Н. Городин, Л. П. Блажняя [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2016. – № 21 (1). – С. 4–13. – ISSN 2226-6976.
31. Плющ, М. Г. Информативность уровней пресепсина для стратификации риска у пациентов после операций на сердце и сосудах / М. Г. Плющ, Е. А. Рогальская, Н. Н. Самсонова // Лаборатория. –  2014. – № 11.  – С. 2–49. – ISSN 0321-4265.
32. Попов, Д. А. Прокальцитонин как предиктор бактериемии в послеоперационном периоде у кардиохирургических больных / Д. А. Попов, С. Т. Овсеенко, Т. Ю. Вострикова // Анестезиология и реаниматология. – 2014. – № 2. – С. 4–9. – ISSN 0201-7563.
33. Прасмыцкий, О. Т. Интенсивная терапия сепсиса / О. Т. Прасмыцкий, Р. Е. Ржеутская. – Минск: БГМУ, 2016. – 18 с. – ISBN 978-985-567-414-7.
34. Ребенок, Ж. А. Сепсис: современные проблемы / Ж. А. Ребенок. – Минск: Четыре четверти, 2007. – 280 с. – ISBN 978-985-567-014-9.
35. Ромашева, М. Л. Диагностика сепсиса у больных в критических состояниях / М. Л. Ромашева, Д. Г. Прошин // Общая реаниматология. – 2007. –Т. 3, – № 4. – С. 34–36. – ISSN 1813-9779.
36. Руднов, В. А. Сепсис: современные подходы к диагностике и интенсивной терапии (часть первая) / В. А. Руднов // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2010. – № 7(1). – С. 48–57. – ISSN 2078-5658.
37. Руководство оператора системы Advia 2400. 2009–06 Rev. B
38. Руководство пользователя Immulite 2000 Xpi. 601005–0004 Rev. A.
39. Руководство пользователя PATHFAST. 1114–0000
40. Рябкова, Н. Л. Эволюция лабораторных маркеров системных бактериальных инфекций / Н. Л. Рябкова, Н. Н. Везикова // Терапевтический архив. – 2017. – № 11. – С. 105–110. – ISSN 0040-3660.
41. Струков, Д. В. Актуальные проблемы сепсиса и септического шока / Д. В. Струков, Ю. С. Александрович, А. Г. Васильев // Педиатр. – 2014. – Т. 5, – № 2. – С. 81–87. – ISSN 2079-7850.
42. Шлоссберг, Д. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней: практ. руководство для врачей и студентов / Д. Шлоссберг, И. А. Шульман // СПб.: Невский Диалект, 2000. – 306 с. – ISBN 978-5-98657-037-2.
43. Endo, S. Presepsin as a powerful monitoring tool for the prognosis and treatment of sepsis: A multicenter prospective study / S. Endo, Y. Suzuki, G. Takahashi // Infect. Chemother. – 2013. – № 18(6). – P. 1–7. – ISSN 20932340.
44. Faix, J. D. Presepsin – The new kid on the sepsis block / J. D. Faix // Clin. Biochem. – 2014. – № 47(7–8). – P. 3–4. – ISSN 00099120.
45. Ingram, N. Procalcitonin: does it have a role in the diagnosis, management and prognosis of patients with sepsis? / N. Ingram // JICS. – 2013. – № 14(3). P. 26–30. – ISSN 1598-0170.
46. Kumar, G. Nationwide trends of severe sepsis in the 21st century (2000–2007) / G. Kumar, N. Kumar, A. Taneja // Chest. – 2011. – № 140(5). – P. 23–31. – ISSN 0012-3692.
47. Marshall, J. C. International Sepsis Forum. Biomarkers of sepsis / J. C. Marshall, K. Reinhart // Crit. Care Med. – 2009. – № 37. – P. 2–8. – ISSN 0090-3493.
48. Moore, L. J. Early diagnosis and evidence-based care of surgical sepsis / L. J. Moore, F. A. Moore // Intensive Care Med. – 2013. – № 28(2). – P. 7–17. – ISSN 0342-4642.
49. Namas, R. Sepsis: Something old, something new, and a systems view / R. Namas, R. Zamora // Crit Care. – 2012. – № 27(3). – P. 1–11. – ISSN 1364-8535.
50. Okamura, Y. Development of a point-of-care assay system for measurement of presepsin (sCD14-ST) / Y. Okamura, H. Yokoi // Clin Chim Acta. – 2011. – № 412 (23–24). – P. 57–61. – ISSN 0009-8981.
51. Pierrakos, C. Sepsis biomarkers: a review / C. Pierrakos, J. L. Vincent // Crit. Care. – 2010. – № 14. – P. 10–15. – ISSN 1364-8535.
52. Reinhart, K. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin / K. Reinhart, M. Meisner // Crit. Care Clin. – 2011. – № 27. – P. 53–63. – ISSN 1070-5295.
53. Samraj, R. S. Role of biomarkers in sepsis care / R. S. Samraj, B. Zingarelli, H. R. Wong // Shock. – 2013. – № 40. – P. 58–65. – ISSN 1073-2322.
54. Slade, E. The Surviving Sepsis Campaign: raising awareness to reduce mortality / E. Slade, P. S. Tamber // Crit Care. – 2003. – № 7(1). – P. 1–2. – ISSN 1364-8535.
55. Vincent, J. L Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein / J. L. Vincent, K. Donadello, X. Schmit // Crit. Care Clin. – 2011. – № 27. – P. 41–51. – ISSN 1070-5295.
56. Zou, Q. Presepsin as a novel sepsis biomarker / Q. Zou, W. Wen, X. Zhang // Emerg. Med. – 2014. – № 5. – P. 16–9. – ISSN 0969-9546.