

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ НЕОБХОДИМОСТИ КОРРЕКЦИИ СНИЖЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ СЕПСИСЕ

АЛЕКСЕЕВА ЕЛЕНА ВЛАДИМИРОВНА, канд. мед. наук, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения общей реаниматологии ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» УДП РФ, Россия, 121359, Москва, ул. Маршала Тимошенко, 15, тел. 8-910-442-11-37, e-mail: aev_69@mail.ru

Реферат. При сепсисе в организме возрастает содержание кинуреновой кислоты, что способствует формированию гипофункции трех нейромедиаторных систем и снижению функции выживаемости. Ряд аминокислот угнетает образование кинуреновой кислоты. **Цель исследования** — изучить у больных при развитии сепсиса и нарастании его тяжести уровень аминокислот в плазме крови, снижающий образование кинуреновой кислоты, для определения оптимального пути коррекции ее повышенного содержания. **Материал и методы.** Анализированы данные двух групп реаниматологических больных. Группа I ($n=43$) — с наличием септического процесса, группа II ($n=19$) — с его отсутствием. Группа I включала подгруппу 1 ($n=24$) с тяжелым сепсисом и подгруппу 2 ($n=19$) с септическим шоком. Группы и подгруппы сопоставимы по содержанию фенилаланина, лейцина, изолейцина, глутаминовой кислоты, аланина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутамина, тирозина. Концентрации аминокислот в плазме крови определены методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии. Статистическая обработка данных проведена с применением ППП Statistica 12. **Результаты и их обсуждение.** Между группами и подгруппами достоверные различия выявлены только по частоте сниженного содержания глутаминовой кислоты. В группе I она выше в 9,8 раза ($p=0,00028$); в подгруппе 1 — больше в 2 раза ($p=0,0208$). Функция 28-дневной выживаемости была больше у пациентов с отсутствием снижения глутаминовой кислоты относительно референсных показателей ($p=0,00074$). **Заключение.** При развитии у реаниматологических больных сепсиса и нарастании его тяжести из аминокислот, угнетающих выработку кинуреновой кислоты, достоверно изменяется (снижается) содержание глутаминовой кислоты. Сниженное содержание глутаминовой кислоты в плазме крови является неблагоприятным фактором течения патологического процесса у больных в критическом состоянии. Коррекция уровня глутаминовой кислоты у больных с сепсисом служит потенциальным патогенетически обоснованным путем снижения содержания в организме кинурениновой кислоты, направленным на восстановление активности трех нейромедиаторных систем.

Ключевые слова: глутаминовая кислота, кинуреновая кислота, сепсис, больные в критическом состоянии.

Для ссылки: Алексеева, Е.В. Некоторые аспекты необходимости коррекции сниженного содержания глутаминовой кислоты при сепсисе / Е.В. Алексеева // Вестник современной клинической медицины. — 2016. — Т. 9, вып. 6. — С.169—178.

SELECTED ASPECTS OF THE NEED IN INCREASED GLUTAMIC ACID CORRECTION IN SEPTIC PATIENTS

ALEKSEEVA ELENA V., C. Med. Sci., anesthesiologist of the Department of intensive care of Central Clinical Hospital and Clinic of the outpatient, Russia, 121359, Moscow, Marshal Timoshenko str., 15, tel. 8-910-442-11-37, e-mail: aev_69@mail.ru

Abstract. Aim. Sepsis is associated with an increased level of kynurenic acid, which contributes to hypofunction of 3 neurotransmitter systems and to the decrease of survival function. A number of amino acids inhibit the formation of kynurenic acid. The trial was performed on septic patients with deterioration of their condition. Plasma levels of amino acids that reduce the formation of kynurenic acids were identified in order to determine an optimal way of correction.

Material and methods. We analyzed data from 2 groups of resuscitated patients. Group I ($n=43$) — septic patients, group II ($n=19$) — patients without sepsis. Group 1 consisted of subgroup 1 ($n=24$) — «severe sepsis», subgroup 2 ($n=19$) — «septic shock». Groups and subgroups were compatible by the content of phenylalanine, leucine, isoleucine, glutamic acid, alanine, methionine, aspartic acid, glutamine, tyrosine. Amino acid concentrations in plasma were determined by high performance liquid chromatography — mass spectrometry. Statistical data processing was carried out by using Statistica 12 software. **Results and discussion.** There were significant differences between groups and sub-groups only in decreased content of glutamic acid rates. In group I it was higher (9,8-fold), $p=0,00028$; more in subgroup 1 (2-fold) $p=0,0208$. 28-day survival rate was higher in patients without reduced level of glutamic acid, relative to the reference parameters, $p=0,00074$. **Conclusion.** Administration of amino acids inhibits production of kynurenic acid that significantly changes glutamic acid level in septic patients with deterioration of their condition. Reduced level of glutamic acid in the blood plasma is an unfavorable factor for the course of pathological process in critical patients.

Key words: glutamic acid, kynurenic acid, sepsis, critical patients.

For reference: Alekseeva EV. Selected aspects of the need in increased glutamic acid correction in septic patients. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2016; 9 (6): 169—178.

Введение. В настоящее время сепсис продолжает оставаться одной из наиболее частых причин неблагоприятного исхода у больных в критическом состоянии (КС). Определенного внимания заслуживает потенциальная возможность коррекции у пациентов с сепсисом уровня содержания в организме кинуреновой кислоты (КК) — центрального звена метаболизма, объединяющего функционирование иммунной, эндотелиальной, глутаматергической, допаминергической и ацетилхолинергической систем. С увеличением тяжести инфекционного и воспалительного процессов концентрация КК возрастает с физиологических 25 и 35 нмоль/л до микромолярных значений [1, 2]. При сепсисе ее уровень увеличивается пропорционально тяжести патологического процесса [3] на 20, 344 и 751% соответственно у больных с диагностическими критериями сепсиса, тяжелого сепсиса и септического шока [4, 5]. В супрафизиологических концентрациях КК блокирует широкий спектр рецепторов [6]. Ее возрастание приводит к гипофункции глутаматергической, ацетилхолинергической и допаминергической нейромедиаторных систем [7, 8]. У реаниматологических больных повышение концентрации КК имеет прямую корреляцию с нарастаем тяжести их состояния [9, 10] и снижением функции выживаемости у пациентов в отделении реанимации (ОР) [9] в течение 21—30 дней [4, 11].

A. Sekine et al. (2015) в условиях эксперимента установили, что ряд аминокислот (АК): фенилаланин, лейцин, изолейцин, глутаминовая кислота, аланин, метионин, аспарагиновая кислота, глутамин, тирозин в физиологических и супрафизиологических концентрациях снижают выработку КК. Пять из вышеописанных АК: лейцин, изолейцин, фенилаланин, метионин и тирозин уменьшают концентрацию КК посредством блокады транспорта кинуренина; другие (аланин, глутамин, глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота) действуют через ингибирование активности аминотрансфераз. Способность АК снижать выработку КК уменьшается в ряду фенилаланин > лейцин > изолейцин > глутаминовая кислота > аланин > метионин > аспарагиновая кислота > глутамин > тирозин. Потенциально с помощью вышеуказанных АК у больных с сепсисом возможно снижение в организме уровня КК и восстановление активности трех нейромедиаторных систем (допаминергической, ацетилхолинергической и глутаматергической) [12]. Актуальным является определение наиболее оптимального пути проведения данной коррекции в клинических условиях.

Цель исследования — изучить у реаниматологических больных при развитии и нарастании тяжести септического процесса содержание в плазме крови аминокислот, снижающих выработку кинуреновой кислоты, для оптимального пути повышения ее содержания.

Материал и методы. Ретроспективно анализированы данные обследования и лечения 62 пациентов в ОР в возрасте в среднем 65 лет (от 57 до 80), женщин — 33, мужчин — 29 человек. Время начала сбора данных — поступление в ОР, окончания — 28-е сутки лечения в ОР или более ранние сроки (перевод

в профильное отделение, смерть). Критерии включения больных в исследование: возраст старше 18 лет; исключения: хронические заболевания, требующие проведения экстракорпоральных методов детоксикации и перевод пациента в ОР другого стационара до окончания сбора данных. Всем больным проведено комплексное обследование и лечение согласно Федеральным стандартам оказания специализированной медицинской помощи и современным международным рекомендациям. С учетом диагностических критериев сепсиса международных рекомендаций 2012 г. «Surviving sepsis campaign» (кампания «Выживание при сепсисе») [13] выделены две группы больных: группа I ($n=43$) с наличием септического процесса и группа II ($n=19$) с отсутствием септического процесса. Группа I разделена на две подгруппы больных: подгруппу 1 ($n=24$) составили больные с тяжелым сепсисом, подгруппу 2 ($n=19$) — с септическим шоком. Распределение больных по основному заболеванию и общей тяжести состояния при поступлении в ОР представлено в *табл. 1*.

У всех больных при поступлении в ОР определены уровни изучаемых АК (фенилаланина, лейцина, изолейцина, глутаминовой кислоты, аланина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутамин, тирозина) в плазме венозной крови. Забор крови проводили в первые 6 ч до начала энтерального и парентерального питания (исключая поступление аминокислот извне) или использования методов экстракорпоральной детоксикации. Непосредственно после забора крови отделяли плазму и хранили ее при температуре минус 40°C (не более 5 сут) до проведения анализа. Лабораторная часть исследования выполнена в научно-лабораторном комплексе ХРОМОЛАБ (г. Москва) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии. В качестве референсных значений приведены диапазоны концентраций АК в плазме крови для взрослого населения старше 18 лет, используемые в настоящее время в данном научно-лабораторном комплексе. Определение концентрации АК в плазме крови и цереброспинальной жидкости в настоящее время признаны наиболее доступными средствами косвенной оценки аминокислотного гомеостаза в клинических условиях [14]. Доминирующим методом идентификации АК служит высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), наиболее совершенным способом детектирования является масс-спектрометрический метод [15].

Проведено 3 серии исследований

I. Сравнительный анализ содержания исследуемых аминокислот в группах больных в критическом состоянии с отсутствием септического процесса и с его наличием в подгруппах пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком.

II. Анализ взаимосвязи содержания глутаминовой кислоты у больных в критическом состоянии с развитием септического процесса и нарастанием его тяжести.

III. Анализ взаимосвязи уровня глутаминовой кислоты в плазме крови у больных в критическом состоянии с функцией 28-дневной выживаемости в отделении реаниматологии.

Распределение больных по основному заболеванию и тяжести состояния

Группа больных	Подгруппа больных	Основное заболевание, вызвавшее развитие критического состояния	Количество больных	Возраст	АРАСНЕ II
С отсутствием септического процесса (n=19)		Нетравматическое внутримозговое кровоизлияние	2	60	24
				41	38
		Ишемическая болезнь сердца	2	69	Состояние после аортокоронарного шунтирования
				60	
		Хроническая болезнь почек	1	52	17
		Внутричерепная травма	1	54	26
		Хронические болезни нижних дыхательных путей	2	65	32
				86	13
		Феохромоцитома	1	57	34
		Желчнокаменная болезнь	2	64	4
				43	5
		Злокачественное новообразование органов пищеварения	3	62	7
				77	9
				47	3
		Легочная эмболия с развитием острого легочного сердца	1	84	12
		Отравление психотропными средствами	1	84	21
Амебиаз печени	1	28	7		
Острое нарушение мозгового кровообращения	2	77; 62	31; 25		
<i>Всего</i>	<i>19</i>	<i>62 (52; 77)</i>	<i>17 (7; 26)</i>		
С наличием септического процесса (n=43)	Тяжелый сепсис (n=24)	Пневмония	12	80 (57; 85)	27 (14; 32)
		Язва желудка и двенадцатиперстной кишки с прободением	2	45	28
				85	20
		Прободение кишечника (нетравматическое)	3	63	21
				81	29
				80	31
		Пиелонефрит	2	86; 63	26; 12
		Цереброваскулярные болезни, пневмония	2	53	27
	86			30	
	Глиобластома, пневмония	1	57	29	
	Флебит и тромбофлебит	2	69; 58	17; 18	
	<i>Всего</i>	<i>24</i>	<i>74 (58; 83)</i>	<i>24 (16; 31)</i>	
	Септический шок (n=19)	Пневмония	7	81 (62; 88)	36 (26; 44)
		Язва двенадцатиперстной кишки с прободением	2	66	24
				63	52
		Прободение кишечника (нетравматическое)	4	45	36
				78	33
				63	32
		79	47		
		Пиелонефрит	1	77	22
Острый и подострый бактериальный эндокардит		2	72	44	
			86	32	
Глиобластома, пневмония		1	64	40	
Бактериальный менингит		1	78	35	
Эндомиометрит	1	29	12		
Острый лейкоз, пневмония	1	62	38		
<i>Всего</i>	<i>19</i>	<i>72 (62; 79)</i>	<i>36 (24; 44)</i>		
<i>Всего</i>		<i>62 (57; 80)</i>	<i>26 (14; 34)</i>		

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с применением классических математических методов анализа (пакета прикладных программ Statistica 12) и метатехнологий интеллектуального анализа (приложение Data Mining Statistica 12). Используются непараметрические методы представления и сопоставления данных. Сравнение групп и подгрупп по количественным показателям проведено с помощью U-критерия Манна — Уитни; по качественным признакам — методом Пирсона. Оценка функции 28-дневной выживаемости выполнена по методу Каплана — Мейера, сравнение 28-дневной выживаемости в ОР в группах и подгруппах — посредством F-критерия Кокса. Зависимость времени жизни от независимых переменных оценена по адекватности регрессионных моделей: пропорциональных интенсивностей Кокса, экспоненциальной регрессии и логнормальной регрессии. В приложении Data Mining Statistica 12 использованы программы Feature Selection and Variable Screening (выбор признаков и экранирование переменной), позволившие определить наиболее значимые отличительные признаки сопоставляемых групп и подгрупп; программа Predictor Screening (отбор предиктора) и модуль искусственных нейронных сетей (Neural Networks). Пороговый уровень статистической значимости во всех случаях составил $p < 0,05$; клинической — индивидуально для каждого полученного результата.

Исследование выполнено с соблюдением международного стандарта этических норм и качества научных исследований «Надлежащая клиническая практика» («Good Clinical Practice») (ГОСТР 52379-2005).

Результаты и их обсуждение

1. Сравнительный анализ содержания исследуемых аминокислот у больных в критическом состоянии с отсутствием септического процесса и с его наличием у пациентов с тяжелым сепсисом и септическим шоком

В группе I по сравнению с группой II при использовании классических математических методов зарегистрированы: 1) большая частота (в 9,8 раза) встречаемости сниженного относительно референсных значений содержания глутаминовой кислоты в плазме крови: 21/43 (49%) — 1/19 (5%); $p=0,00028$; метод — классический критерий χ^2 по Пирсону (МП «хи-квадрат»), табл. 2; 2) меньшие (в среднем на 20%) уровни абсолютной концентрации глутаминовой кислоты в плазме крови: 93 (67; 129) мкмоль/л — 115 (97; 186) мкмоль/л; $p=0,00782$, метод Манна — Уитни (см. табл. 2).

При применении программы Feature Selection and Variable Screening (выбор признаков и экранирование переменной) приложения Data Mining Statistica 12 различия между группами подтверждены лишь для частоты встречаемости сниженного относительно референсных значений уровня глутаминовой

Таблица 2

Содержание исследуемых аминокислот в плазме крови в группах больных в критическом состоянии без диагностических критериев сепсиса и с наличием септического процесса

Исследуемая АК. Референсные значения (мкмоль/л)	Группа I (n=43) — больные с наличием септического процесса; исследуемые параметры в группе				Группа II (n=19) — больные с отсутствием септического процесса; исследуемые параметры в группе			
	Абсолютная концентрация исследуемой АК в плазме крови (мкмоль/л), Ме (25%; 75%)	Доля (процент) больных, у которых концентрация исследуемой АК относительно референсных показателей			Абсолютная концентрация исследуемой АК в плазме крови (мкмоль/л)	Доля (процент) больных, у которых концентрация исследуемой АК относительно референсных показателей		
		не изменена	снижена	повышена		не изменена	снижена	повышена
Лейцин, 74—196	80 (63; 90)	30/43 (70%)	13/43 (30%)	—	90 (62; 106)	13/19 (68%)	6/19 (32%)	—
Изолейцин, 35—104	44 (37; 56)	40/43 (93%)	2/43 (5%)	1/43 (2%)	46 (37; 56)	16/19 (84%)	2/19 (11%)	1/19 (5%)
Глутамин, 372—876	394 (375; 405)	35/43 (81%)	8/43 (19%)	—	405 (385; 486)	15/19 (79%)	4/19 (21%)	—
Аланин, 177—583	158 (124; 261)	19/43 (44%)	24/43 (56%)	—	178 (144; 235)	10/19 (53%)	9/19 (47%)	—
Аспарагиновая кислота, 1—240	38 (26; 68)	43/43 (100%)	—	—	55 (30; 68)	19/19 (100%)	—	—
Глутаминовая кислота, 92—497	93 (67; 129)**	22/43 (51%)	21/43 (49%)**	—	115 (97; 186)**	18/19 (95%)	1/19 (5%)**	—
Метионин, 6—34	8 (5; 12)	29/43 (68%)	13/43 (30%)	1/43 (2%)	9 (5; 15)	13/19 (68%)	6/19 (32%)	—
Тирозин, 24—96	41 (29; 59)	37/43 (86%)	5/43 (12%)	1/43 (2%)	46 (35; 62)	17/19 (90%)	1/19 (5%)	1/19 (5%)
Фенилаланин, 20—87	32 (23; 42)	41/43 (95%)	2/43 (5%)	—	31 (26; 35)	19/19 (100%)	—	—

Примечание: ** различия между группами статистически высоко достоверны ($p < 0,01$).

кислоты в плазме крови: 21/43 (49%) — 1/16 (5%), Chi-square = 10,9; $p=0,000946$.

Между подгруппами больных при использовании классических методов статистического анализа установлены различия в частоте встречаемости сниженного содержания в плазме крови глутаминовой кислоты и глутамин (табл. 3). В подгруппе септического шока сниженное содержание глутаминовой кислоты зарегистрировано в 2 раза чаще [в 13/19 (68%) случаях], чем у больных с тяжелым сепсисом [в 8/24 (33%) случаях]; $p=0,0208$; МП «хи-квадрат». Также показано, что с увеличением тяжести септического процесса частота снижения глутамин в плазме крови у больных возрастала в 4 раза: в 2/24 (8%) и 6/19 (32%); $p=0,02804$, точный критерий Фишера. Но при использовании программы Feature Selection and Variable Screening (выбор признаков и экранирование переменной) различия между подгруппами подтверждены только для частоты сниженного содержания глутаминовой кислоты: 13/19 (68%) — 8/24 (33%), Chi-square = 5,2; $p=0,0222$.

Итак, в группах и подгруппах больных статистически достоверные различия в уровнях содержания аминокислот, обладающих способностью снижать концентрацию кинуреновой кислоты и, следовательно, влиять на развитие гиподисфункции глутаматергической, допаминергической и ацетилхолинергической систем, подтвержденные как с использованием классических математических

методов, так и метатехнологий интеллектуального анализа данных, установлены только для глутаминовой кислоты (рис. 1).

Сниженные уровни глутаминовой кислоты в плазме крови у больных с септическим процессом встречаются чаще (в 9,8 раза) по сравнению с реаниматологическими пациентами без сепсиса и у пациентов с септическим шоком чаще (в 2 раза) по отношению к больным с тяжелым сепсисом. При формировании и прогрессировании септического процесса сниженное содержание глутаминовой кислоты в плазме крови является одним из значимых патогенетических факторов в развитии гиподисфункции глутаматергической, допаминергической и ацетилхолинергической систем.

2. Анализ взаимосвязи содержания глутаминовой кислоты у больных в критическом состоянии с развитием септического процесса и нарастанием его тяжести

Установлено наличие прямой ассоциативно-корреляционной связи: 1) между развитием у больных в критическом состоянии септического процесса и сниженным содержанием глутаминовой кислоты [коэффициент ассоциации-корреляции (r)=0,890, метод Гамма]; 2) между нарастанием тяжести септического процесса (от тяжелого сепсиса к септическому шоку) и частотой снижения глутаминовой кислоты в плазме крови ($r=0,625$, метод Гамма); 3) между увеличением тяжести септического процесса и сниженным содержанием глутамин ($r=0,730$, метод Гамма).

Таблица 3

Содержание исследуемых аминокислот в плазме крови в подгруппах больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком

Исследуемая АК. Референсные значения (мкмоль/л)	Подгруппа 1 больных с тяжелым сепсисом (n=24); исследуемые параметры в подгруппе				Подгруппа 2 больных с септическим шоком (n=19); исследуемые параметры в подгруппе			
	Абсолютная концентрация исследуемой АК в плазме крови (мкмоль/л), Me (25%; 75%)	Доля (процент) больных, у которых концентрация исследуемой АК относительно референсных показателей			Абсолютная концентрация исследуемой АК в плазме крови (мкмоль/л)	Доля (процент) больных, у которых концентрация исследуемой АК относительно референсных показателей		
		не изменена	снижена	повышена		не изменена	снижена	повышена
Лейцин, 74—196	79 (69; 88)	18/24 (75%)	6/24 (25%)	—	85 (63; 96)	12/19 (63%)	7/19 (37%)	—
Изолейцин, 35—104	43 (39; 51)	24/24 (100%)	—	—	45 (36; 62)	16/19 (84%)	2/19 (11%)	1/19 (5%)
Глутамин, 372—876	394 (381; 404)	22/24 (92%)	2/24 (8%)*	—	390 (370; 405)	13/19 (68%)	6/19 (32%)*	—
Аланин, 177—583	154 (115; 260)	10/24 (42%)	14/24 (58%)	—	157 (128; 233)	9/19 (47%)	10/19 (53%)	—
Аспарагиновая кислота, 1—240	38 (27; 98)	24/24 (100%)	—	—	39 (25; 61)	20/20 (100%)	—	—
Глутаминовая кислота, 92—497	106 (77; 132)	16/24 (67%)	8/24 (33%)*	—	80 (65; 110)	6/19 (32%)	13/19 (68%)*	—
Метионин, 6—34	8 (5; 11)	16/24 (67%)	8/24 (33%)	—	8 (5; 15)	13/19 (68%)	5/19 (27%)	1/19 (5%)
Тирозин, 24—96	45 (24; 63)	19/24 (79%)	4/24 (17%)	1/24 (4%)	40 (31; 56)	18/19 (95%)	1/19 (5%)	—
Фенилаланин, 20—87	31 (23; 38)	23/24 (96%)	1/24 (4%)	—	32 (22; 52)	18/19 (95%)	1/19 (5%)	—

Примечание: * различия между подгруппами статистически достоверны ($p<0,05$).

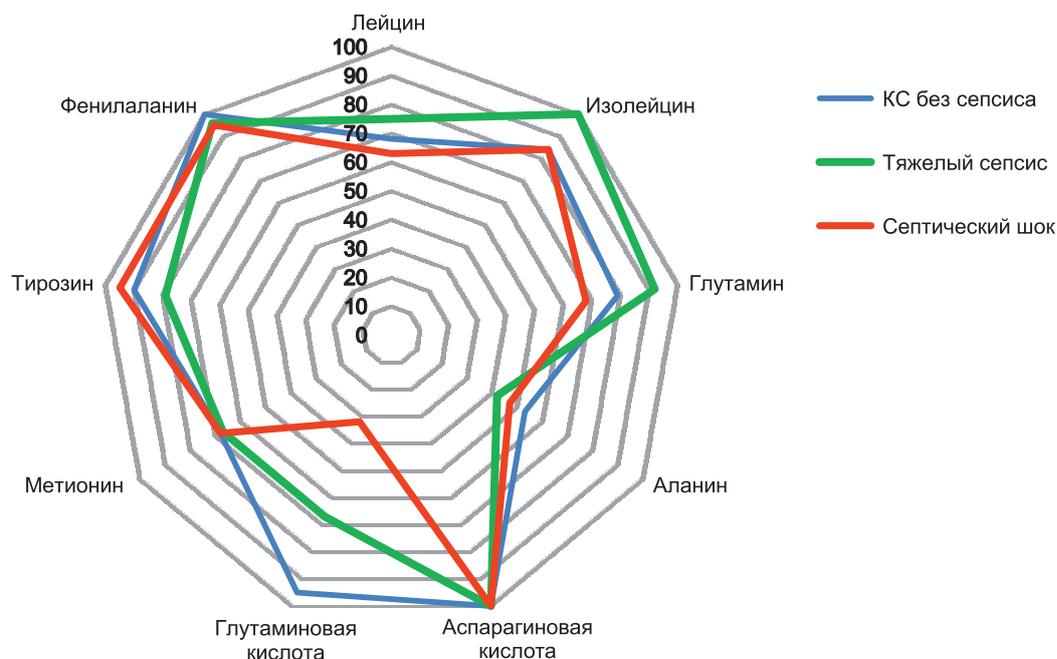


Рис. 1. Частота встречаемости концентраций аминокислот в плазме крови в пределах референсных значений у больных в критическом состоянии без сепсиса, с тяжелым сепсисом и септическим шоком: КС — критическое состояние; 0—100 — процент больных с уровнем исследуемой аминокислоты в плазме крови в пределах референсных значений

Статистически подтверждена причинно-следственная связь (путем ее моделирования) между развитием септического процесса (фактором) и сниженным содержанием глутаминовой кислоты в плазме крови (откликом, следствием). Упрощенной моделью исследуемой причинно-следственной связи может служить классическая модель логистической регрессии, а также модель, созданная с использованием программы Predictor Screening (отбор предиктора) приложения Data Mining Statistica 12 (Chi-square = 10,9; $p=0,0009$).

Модель логистической регрессии имеет вид уравнения:

$$y = \exp [290,07 + (-2,8) \times x] / [1 + \exp (290,07 + (-2,8) \times x)],$$

где x — фактор причины (наличие или отсутствие септического процесса); y — следствие (наличие или отсутствие сниженного содержания глутаминовой кислоты в плазме крови).

Предсказываемые значения y принадлежат отрезку $[0; 1]$, при округлении полученных значений до целого значения (либо 0, либо 1) имеем значение отклика.

Оценка адекватности построенной модели проведена по методу квази-Ньютона, результат: Chi-square = 13,2; $p=0,0002$. Так как значение p менее 0,05, то модель считается адекватной.

Статистическое подтверждение причинно-следственной связи установлено между нарастанием тяжести септического процесса и частотой регистрации сниженного содержания глутаминовой кислоты в плазме крови с использованием модели логистической регрессии (Chi-square = 5,3; $p=0,02$) и при помощи программы Predictor Screening (Chi-square = 5,2; $p=0,02$). Более эффективные регрес-

сионные модели этой связи могут быть созданы при применении модуля искусственных нейронных сетей (Neural Networks приложения Data Mining Statistica 12), общее число правильно классифицированных наблюдений при этом в построенных моделях достигает 77,7—88,8%. Таким образом, у реаниматологических пациентов установлено наличие прямых корреляций и статистически подтверждены причинно-следственные связи между развитием септического процесса и нарастанием его тяжести, с одной стороны, и частотой снижения в плазме крови глутаминовой кислоты и глутамина, с другой стороны.

3. Анализ взаимосвязи содержания глутаминовой кислоты у больных в критическом состоянии с функцией 28-дневной выживаемости в отделении реаниматологии

Вероятность прожить 28-дневный отрезок времени в отделении реаниматологии (функция выживаемости) была меньше у больных с исходно сниженными уровнями глутаминовой кислоты в плазме крови как в общей выборке пациентов ($n=62$) [F-критерий Кокса; $p=0,0016$ (рис. 2); отношение шансов (ОШ) наступления неблагоприятного исхода = 5], так и у пациентов с наличием септического процесса ($n=43$) [F-критерий Кокса; $p=0,017$; ОШ наступления неблагоприятного исхода = 2,4], табл. 4.

Статистически подтверждено влияние сниженного уровня глутаминовой кислоты у больных в критическом состоянии (КС) на функцию 28-дневной выживаемости в ОР — адекватны регрессионные модели исследуемой причинно-следственной связи (модели пропорциональных интенсивностей Кокса, $p=0,0061$; экспоненциальной регрессии, $p=0,0032$; логнормальной регрессии, $p=0,019$; нормальной линейной регрессии, $p=0,0052$).

Различия вероятности (ОШ) наступления неблагоприятного исхода в 28-дневный период в ОР

ОШ (Глу снижен/Глу в пределах референсных значений) = (a/e)/(c/d)			
Выборка больных	Исследуемый параметр	Группа больных	
		Пациенты, умершие в течение 28 дней в ОР	Пациенты, выжившие в течение 28 дней в ОР
Общая выборка больных (n=62)	Глу снижен	a n=18	b n=4
	Глу в пределах референсных значений	c n=19	d n=21
Больные с септическим процессом (n=43)	Глу снижен	a n=17	b n=4
	Глу в пределах референсных значений	c n=14	d n=8

Примечание: Глу — уровень глутаминовой кислоты в плазме крови, ОШ — отношение шансов.

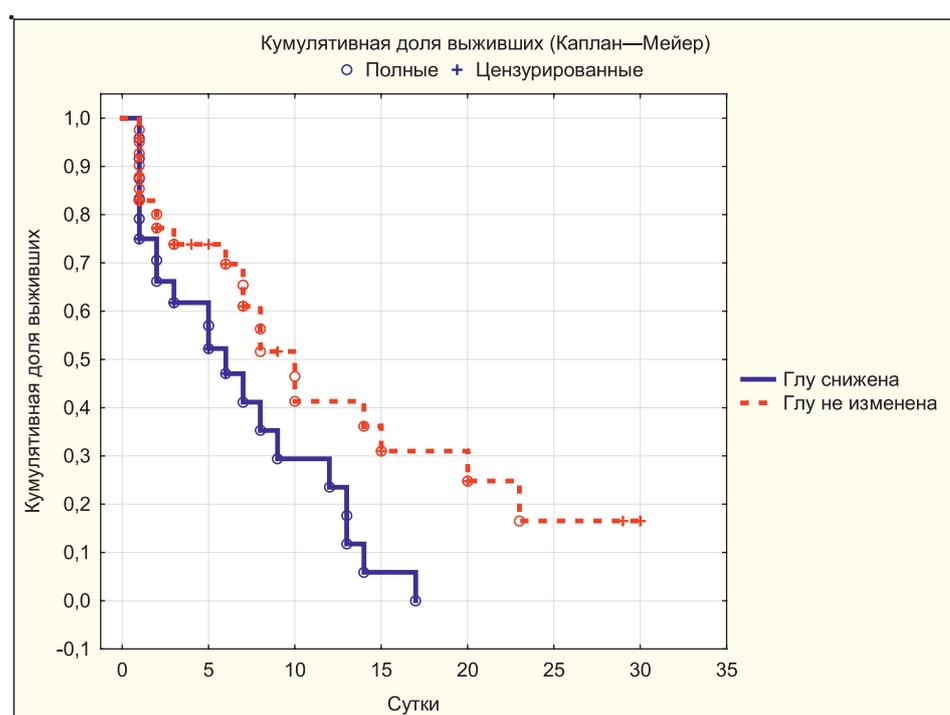


Рис. 2. 28-дневная выживаемость в отделении реанимации у больных с исходно сниженными и исходно неизменными относительно референсных значений концентрациями глутаминовой кислоты в плазме крови: Глу снижена — график функции выживаемости в ОР у пациентов в КС со сниженной относительно референсных значений концентрацией глутаминовой кислоты в плазме крови. Глу не изменена — график функции выживаемости в ОР у пациентов в КС с концентрацией глутаминовой кислоты в плазме крови в пределах референсных значений

Таким образом, у больных в критическом состоянии содержание в плазме крови глутаминовой кислоты, снижающей выработку КК, взаимосвязано с функцией 28-дневной выживаемости в ОР. Сниженное содержание глутаминовой кислоты является неблагоприятным фактором функции выживаемости как в общей выборке реаниматологических больных, так и у пациентов с наличием септического процесса. Коррекция сниженного содержания глутаминовой кислоты в плазме крови у больных в критическом состоянии потенциально необходима и предполагает успех лечебного воздействия.

До 2013 г. исследования молекулярных изменений, развивающихся в организме при сепсисе, с использованием метаболомных методов в основном были ограничены экспериментами на животных

[19]. В 2013—2015 гг. зарубежными авторами были выполнены первые работы по изучению прогностической значимости метаболомного спектра плазмы крови у больных сепсисом, до настоящего времени известны лишь единичные исследования. Настоящее исследование проведено в 2013—2015 гг., т.е. параллельно и независимо с подобными работами зарубежных авторов. И в работах зарубежных авторов, и в настоящем исследовании были использованы «классические» диагностические критерии сепсиса (без уточнений, принятых в 2016 г.).

В 2016 г. экспертами принята концепция, согласно которой при сепсисе происходит одновременная [16] ранняя активация как провоспалительных, так и противовоспалительных реакций [17], наряду с осново-

полагающими неиммунологическими органами нарушениями. Введены новые усовершенствованные диагностические критерии сепсиса — «Сепсис-3», согласно которым у пациентов диагностируют сепсис и септический шок. Дисфункцию органов, индуцированную ответом организма больного на инфекцию, устанавливают увеличением оценки полиорганной недостаточности по шкале SOFA (Sepsis-related Organ Failure) на 2 и более балла. Критерии диагностики септического шока, помимо необходимости применения вазопрессорной поддержки (на фоне адекватной инфузионной терапии) для поддержания среднего артериального давления (АД), равным или более 65 мм рт. ст., включают уровень сывороточного лактата выше 2 ммоль/л [18]. Таким образом, «новые критерии» сепсиса и септического шока во многом сопоставимы с прежними «классическими» диагностическими параметрами тяжелого сепсиса и септического шока.

Поэтому для возможности сравнения результатов, полученных в настоящем исследовании, с предшествующими работами все данные представлены в первоначальном варианте. Метаболомные работы, как правило, включают небольшое количество пациентов, в связи с чем неочевидное значение оказывает накопление полученных результатов. Кроме того, эксперты уточняют, что пока еще не установлены простые клинические или лабораторно-инструментальные критерии, позволяющие однозначно идентифицировать септического пациента [18].

В настоящей работе развитие септического процесса в организме больного рассмотрено в непосредственной связи с одним из центральных звеньев метаболизма — изменением содержания в организме кинуреновой кислоты (КК) — нейроактивного продукта кинуренинового пути катаболизма триптофана в большинстве тканей. КК служит антагонистом трех видов инотропных рецепторов глутамата и $\alpha 7$ -никотиновых рецепторов ацетилхолина, повышение ее содержания способствует развитию гиподисфункции ацетилхолинергической, глутаматергической, допаминергической нейромедиаторных систем. Снижение повышенного уровня КК у реаниматологических больных является потенциальным патогенетически обоснованным лечебным воздействием, имеющим целью увеличение активности трех нейромедиаторных систем. Настоящее исследование является логическим продолжением экспериментальных работ А. Sekine et al. (2015), в ходе которых у ряда аминокислот было выявлено свойство снижать выработку кинуреновой кислоты [12]. В настоящей работе определен потенциально наиболее оптимальный путь ее проведения у больных с сепсисом посредством восстановления сниженного содержания глутаминовой кислоты в плазме крови.

Рассматриваемая в настоящем исследовании выборка больных в критическом состоянии являлась репрезентативной, и результаты настоящей работы согласуются с итогами ряда работ зарубежных авторов.

Данные настоящего исследования о том, что у больных с наличием септического процесса

уровни глутаминовой кислоты в плазме крови ниже, чем у реаниматологических пациентов с его отсутствием, соответствуют результатам клинических работ В. Mickiewicz et al. (2013), R.J. Langley (2013) и В. Mickiewicz et al. (2015). В исследовании В. Mickiewicz et al. (2013) у детей дошкольного возраста с септическим шоком уровни глутаминовой кислоты в плазме крови были ниже, чем у их сверстников, находящихся в критическом состоянии, но без признаков инфицирования (взятие крови осуществляли в первые 24 ч после поступления детей в ОР) [20]. В работе R.J. Langley (2013) у взрослых больных с сепсисом уровни глутаминовой кислоты и глутамин при поступлении в ОР и через 24 ч лечения были достоверно ниже по сравнению с неинфицированными пациентами с синдромом системного воспалительного ответа [21]. В исследовании В. Mickiewicz et al. (2015) в первые 24 ч поступления в ОР у больных с септическим шоком отмечалось достоверное снижение концентрации глутаминовой кислоты в плазме крови по сравнению с уровнем ее содержания у пациентов в критическом состоянии без признаков инфицирования ($R = -0,65$; $p = 0,000486$) [22]. Пациенты, входящие в исследование В. Mickiewicz et al. (2015), были крайне близки по клинико-демографическим характеристикам с больными настоящего исследования: их средний возраст составил 63 года (от 59,8 до 77), оценка общей тяжести по шкале APACHE II (Acute physiology and chronic health evaluation II) — 25,5 (17,5; 31,3). Наши данные о том, что прогрессирование септического процесса наиболее часто (у больных с септическим шоком в 68% случаев) сопровождается развитием гиподисфункции глутаматергической нейромедиаторной системы, согласуются с результатами моделирования септического процесса у животных [С. Boutry et al. (2012) [23] и К. Noworyta-Sokolowska et al. (2013)] [24] и у здоровых добровольцев [R.F. Vesali et al. (2005)] [25]. В исследовании С. Boutry et al. (2012) зарегистрировано быстрое уменьшение концентрации почти всех аминокислот, включая глутаминовую кислоту, в плазме крови и мышечной ткани у крыс после интраперитонеального введения липополисахарида (ЛПС) [23]. В работе К. Noworyta-Sokolowska et al. (2013) введение ЛПС в течение 5 дней приводило к значительному снижению внеклеточной концентрации глутаминовой кислоты [24]. R.F. Vesali et al. (2005) с первых часов эндотоксемии (после введения ЛПС здоровым добровольцам) описывают непрерывное уменьшение концентрации глутаминовой кислоты в плазме крови [25].

Вместе с тем в настоящем исследовании показано, что у больных в критическом состоянии с наличием септического процесса содержание глутаминовой кислоты и его основного предшественника и метаболита — глутамин в плазме крови может находиться как в пределах референсных значений, так и быть снижены. В связи с чем в определенной степени становятся разрешенными казавшиеся на первый взгляд «противоречия» результатов ряда предыдущих исследований. Так, в работе Н.Р. Freund et al. (1978), включавшей 15 больных с сепсисом, было зарегистрировано умеренное

повышение уровней содержания глутаминовой кислоты в плазме крови [26]. В экспериментальном исследовании K. Noworyta-Sokolowska et al. (2013) значимое снижение содержания глутаминовой кислоты установлено лишь после 5-дневного введения ЛПС и не отмечено изменений ее концентрации после однократного введения [24]. Эти данные не противоречат вышеописанным закономерностям, а служат определенной частью в накопленной базе сведений о состоянии компонентов глутаматергической нейромедиаторной системы при развитии в организме септического процесса. Разрешению имеющихся «противоречий» способствует установленная в клинических условиях (по результатам настоящей работы) взаимосвязь не только между развитием септического процесса и более частым снижением глутаминовой кислоты в плазме крови, но и между нарастанием его тяжести — от тяжелого сепсиса к септическому шоку. Сниженный уровень глутаминовой кислоты в плазме крови у больных в критическом состоянии без септического процесса зарегистрирован в 5% случаев (1/19), у пациентов с наличием критериев тяжелого сепсиса — в 33% случаев (8/24), у больных с септическим шоком — в 68% случаев (13/19).

В отношении изменений содержания *глутамин* у больных в критическом состоянии в настоящем исследовании по результатам классического статистического анализа показано, что с нарастанием тяжести септического процесса частота его снижения в плазме крови возрастает в 4 раза. Одним из объяснений этой закономерности могут служить известные данные об увеличении клиренса глутамин при формировании у больных септического процесса [27].

Глутаминовая кислота — наиболее распространенная внутриклеточная аминокислота, входящая в состав большого количества метаболических реакций и принимающая участие в регулировании множества ключевых физиологических процессов. О том, что относительно более низкие значения ее концентрации в плазме могут служить независимым предиктором неблагоприятного исхода в ОР было показано M. Poeze et al. (2008) в исследовании у пациентов с септическим шоком [28] и T. Hirose et al. (2014) у больных с сепсисом [29]. Подтверждением результатов настоящего исследования о сниженном содержании глутаминовой кислоты у больных с сепсисом как о неблагоприятном прогностическом факторе служит работа M. Ferrario et al. (2016). В исследовании M. Ferrario et al. (2016) уровни глутаминовой кислоты при поступлении в ОР у больных с септическим шоком, впоследствии умерших в течение 28-дневного периода, были близки к данным настоящей работы [74 (53; 115) мкмоль/л и 82 (66; 110) мкмоль/л соответственно]. M. Ferrario et al. (2016) отмечают, что данный количественный маркер служит предиктором неблагоприятного исхода в течение 28-дневного периода в ОР у пациентов с септическим шоком [30]. В заключение необходимо добавить, что результаты настоящей работы получены с использованием высокотехнологичных лабораторных методов исследования и в этом

аспекте обладают большой достоверностью. Получению точных результатов также способствовала современная статистическая обработка данных, произведенная с применением как классических методов статистического анализа, так и метатехнологий интеллектуального анализа.

Выводы:

1. При развитии у реаниматологических больных сепсиса и нарастании его тяжести из аминокислот, угнетающих выработку кинуреновой кислоты, достоверно изменяется (снижается) содержание глутаминовой кислоты. Частота ее снижения в плазме крови у больных с септическим процессом возрастает в 9,8 раза по сравнению с реаниматологическими пациентами без сепсиса и в 2 раза у пациентов с септическим шоком по отношению к больным с тяжелым сепсисом.

2. Сниженное содержание глутаминовой кислоты у больных в критическом состоянии является неблагоприятным фактором 28-дневной выживаемости в отделении реаниматологии.

3. Коррекцию уровня глутаминовой кислоты у больных с сепсисом можно рассматривать как потенциальный путь снижения содержания в организме кинурениновой кислоты посредством аминокислот, угнетающих ее выработку, и патогенетически обоснованное лечебное воздействие, направленное на восстановление у пациентов в критическом состоянии активности трех нейромедиаторных систем.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Автор несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых взаимоотношениях. Автор не получал гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Changes in plasma kynurenic acid concentration in septic shock patients undergoing continuous veno-venous haemofiltration / W. Dabrowski, T. Kocki, J. Pilat [et al.] // *Inflammation*. — 2014. — Vol. 37, № 1. — P.223—234.
2. Plasma kynurenic acid concentration in patients undergoing cardiac surgery: effect of anaesthesia / E. Kotlinska-Hasiec, P. Nowicka-Stazka, J. Parada-Turska [et al.] // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. — 2015. — Vol. 63, № 2. — P.129—137.
3. An observational cohort study of the kynurenine to tryptophan ratio in sepsis: association with impaired immune and microvascular function / C.J. Darcy, J.S. Davis, T. Woodberry [et al.] // *PLoS One*. — 2011. — Vol. 6, № 6. — e 21185.
4. Enhanced indoleamine 2,3-dioxygenase activity in patients with severe sepsis and septic shock / P. Tattevin, D. Monnier, O. Tribut [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2010. — Vol. 201, № 6. — P.956—966.
5. *Schmidt, S.V. New Insights intoIDO Biology in Bacterial and Viral Infections/ S.V. Schmidt, J.L. Schultze // Front Immunol.* — 2014. — Vol. 5. — P.384.
6. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders / K. Sas, H. Robotka, J. Toldi [et al.] // *J. Neurol. Sci.* — 2007. — Vol. 257, № 1/2. — P.221—239.
7. *Albuquerque, E.X. Kynurenic acid as an antagonist of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in the brain: facts and challenges / E.X. Albuquerque, R. Schwarcz // Biochem*

- Pharmacol. — 2013. — Vol. 85, № 8. — P.1027—1032, 1029—1032.
8. New prospects for antipsychotic treatment — the role of the kynurenine pathway / H. Karakuła-Juchnowicz, M. Flis, K. Szymona [et al.] // *Psychiatr. Pol.* — 2014. — Vol. 48, № 6. — P.1167—1177.
 9. Early activation of the kynurenine pathway predicts early death and long-term outcome in patients resuscitated from out-of-hospital cardiac arrest / G. Ristagno, R. Latini, J. Vaahersalo [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* — 2014. — Vol. 3, № 4. — e. 001094.
 10. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients / G. Girgin, T.T. Sahin, D. Fuchs [et al.] // *Toxicol. Mech. Methods.* — 2011. — Vol. 21, № 3. — P.231—235.
 11. Stone, T.W. Kynurenine pathway inhibition as a therapeutic strategy for neuroprotection / T.W. Stone, C.M. Forrest, L.G. Darlington // *FEBS J.* — 2012. — Vol. 279, № 8. — P.1386—1397.
 12. Amino acids inhibit kynurenic acid formation via suppression of kynurenine uptake or kynurenic acid synthesis in rat brain in vitro / A. Sekine, M. Okamoto, Y. Kanatani [et al.] // *Springerplus.* — 2015. — Vol. 4. — P.48.
 13. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012 / R. Dellinger, M. Levy, A. Rhodes [et al.] // *Crit Care Med.* — 2013. — Vol. 41, № 2. — P.580—637.
 14. Assessing Glutamatergic Function and Dysfunction in Peripheral Tissues / L. Tremolizzo, G. Sala, C.P. Zoia [et al.] // *Current Medicinal Chemistry.* — 2012. — Vol. 19. — P.1310—1315.
 15. Поздеев, В.К. Методы нейрохимических исследований в клинике / В.К. Поздеев, Н.В. Поздеев. — СПб.: Ренومه, 2013. — 312 с. [Reference: Pozdeev VK, Pozdeev NV. Metody neyrokhimicheskikh issledovaniy v klinike [Methods of neurochemical studies in the clinic]. SPb: Renome [SPb: Renome]. 2013; 312 p.]
 16. Özdemir, V. Innovation Management? Orienting Sepsis R&D and Technology Transfer Towards Stratified Medicine / V. Özdemir, N. Hekim // *EBioMedicine.* — 2016. — Vol. 6. — P.8—9.
 17. Transcriptomic Biomarker to Quantify Systemic Inflammation in Sepsis — A Prospective Multicenter Phase II Diagnostic Study / M. Bauer, E.J. Giamarellos-Bourboulis, A. Kortgen [et al.] // *E. Bio. Medicine.* — 2016. — Vol. 6. — P.114—125.
 18. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) / M. Singer, C.S. Deutschman, C.W. Seymour [et al.] // *JAMA.* — 2016. — Vol. 315, № 8.
 19. Metabolomics in pneumonia and sepsis: an analysis of the GenIMS cohort study / C.W. Seymour, S. Yende, M.J. Scott [et al.] // *Intensive Care Med.* — 2013. — Vol. 39, № 8. — P.1423—1434.
 20. Metabolomics as a novel approach for early diagnosis of pediatric septic shock and its mortality/ B. Mickiewicz, H.J. Vogel, H.R. Wong [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2013. — Vol. 187, № 9. — P.967—976.
 21. An integrated clinico-metabolomic model improves prediction of death in sepsis / R.J. Langley, E.L. Tsalik, J.C. van Velkinburgh [et al.] // *Sci. Transl. Med.* — 2013. — Vol. 5, № 195. — P.195.
 22. Integration of metabolic and inflammatory mediator profiles as a potential prognostic approach for septic shock in the intensive care unit / B. Mickiewicz, P. Tam, C.N. Jenne [et al.] // *Crit Care.* — 2015. — Vol. 19. — P.11.
 23. Decreased glutamate, glutamine and citrulline concentrations in plasma and muscle in endotoxemia cannot be reversed by glutamate or glutamine supplementation: a primary intestinal defect ? / C. Boutry, H. Matsumoto, C. Bos [et al.] // *Amino Acids.* — 2012. — Vol. 43, № 4. — P.1485—1498.
 24. Noworyta-Sokołowska, K. LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum / K. Noworyta-Sokołowska, A. Górka, K. Gołombiowska // *Pharmacol. Rep.* — 2013. — Vol. 65, № 4. — P.863—869.
 25. Amino acid metabolism in leg muscle after an endotoxin injection in healthy volunteers / R.F. Vesali, M. Klaude, O. Rooyackers [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 288, № 2. — P.360—364.
 26. Freund, H.R. Amino acid derangements in patients with sepsis: treatment with branched chain amino acid rich infusions / H.R. Freund, J.A. Ryan Jr., J.E. Fischer // *Ann. Surg.* — 1978. — Vol. 188, № 3. — P.423—430.
 27. Alterations in glutamine metabolism and its conversion to citrulline in sepsis / C. Kao, J. Hsu, V. Bandi, [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2013. — Vol. 304, № 12. — P.1359—1364.
 28. Decreased plasma glutamate in early phases of septic shock with acute liver dysfunction is an independent predictor of survival / M. Poeze, Y.C. Luiking, P. Breedveld [et al.] // *Clin. Nutr.* — 2008. — Vol. 27, № 4. — P.523—530.
 29. Altered balance of the aminogram in patients with sepsis — The relation to mortality / T. Hirose, K. Shimizu, H. Ogura [et al.] // *Clin. Nutr.* — 2014. — Vol. 33, № 1. — P.179—182.
 30. Mortality prediction in patients with severe septic shock: a pilot study using a target metabolomics approach / M. Ferrario, A. Cambiaghi, L. Brunelli [et al.] // *Sci. Rep.* — 2016. — Vol. 6. — P. 20391.