




Государственное бюджетное учреждение
здравоохранения Московской области
Московский областной научно-исследовательский
клинический институт им. М.Ф. Владимирского



Внеклеточная ДНК как ранний предиктор развития системного воспалительного ответа и острого почечного повреждения у больных после операций на сердце

**Борисов К.Ю., Филипповская Ж.С., Забелина Т.С., Гребенчиков О.А.,
Зиновкин Р.А., Шапкин М.А., Лихванцев В.В.**



➤ Стерильное воспаление может быть вызвано ассоциированными с повреждением молекулярными частицами (Damage-associated molecular patterns, DAMPs), которые высвобождаются из умирающих клеток: белками, липидами, АТФ и ДНК

Piccinini A.M., Midwood K.S. DAMPening inflammation by modulating TLR signalling. Mediators Inflamm. 2010

➤ Внеклеточная ДНК в кровотоке представлена митохондриальной ДНК и ядерной ДНК

➤ Концентрация внеклеточной ДНК повышается при: сепсисе, ишемическом инсульте, эмболии легочной артерии, онкопатологии, инфаркте миокарда и тяжелых травмах

Jahr S. et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. Cancer Res. 2001; 61: 1659–1665.

Tsai N.W. et al. The value of serial plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in patients with acute ischemic stroke. Clin. Chim. Acta. 2011; 412: 476–479.

Kung C.T. et al. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels as predictors of outcome in severe sepsis patients in the emergency room. J. Transl. Med. 2012; 10: 130.

Arnalich F. et al. Plasma levels of mitochondrial and nuclear DNA in patients with massive pulmonary embolism in the emergency department: a prospective cohort study. Crit. Care. 2013; 17: R90.

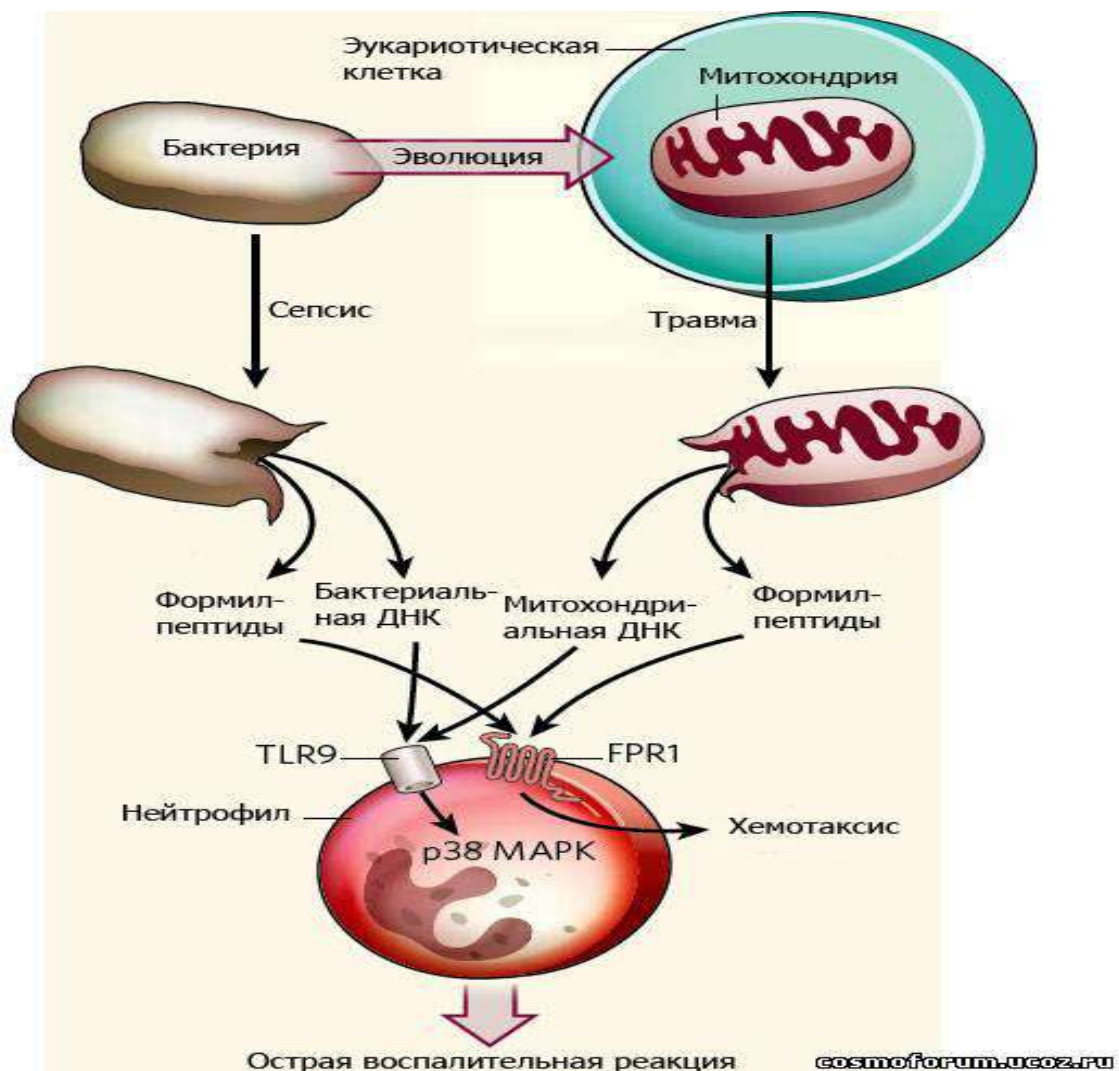
Gonzalez-Masia J.A. et al. Circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS): applications in oncology. Onco Targets Ther. 2013; 6: 819–832.

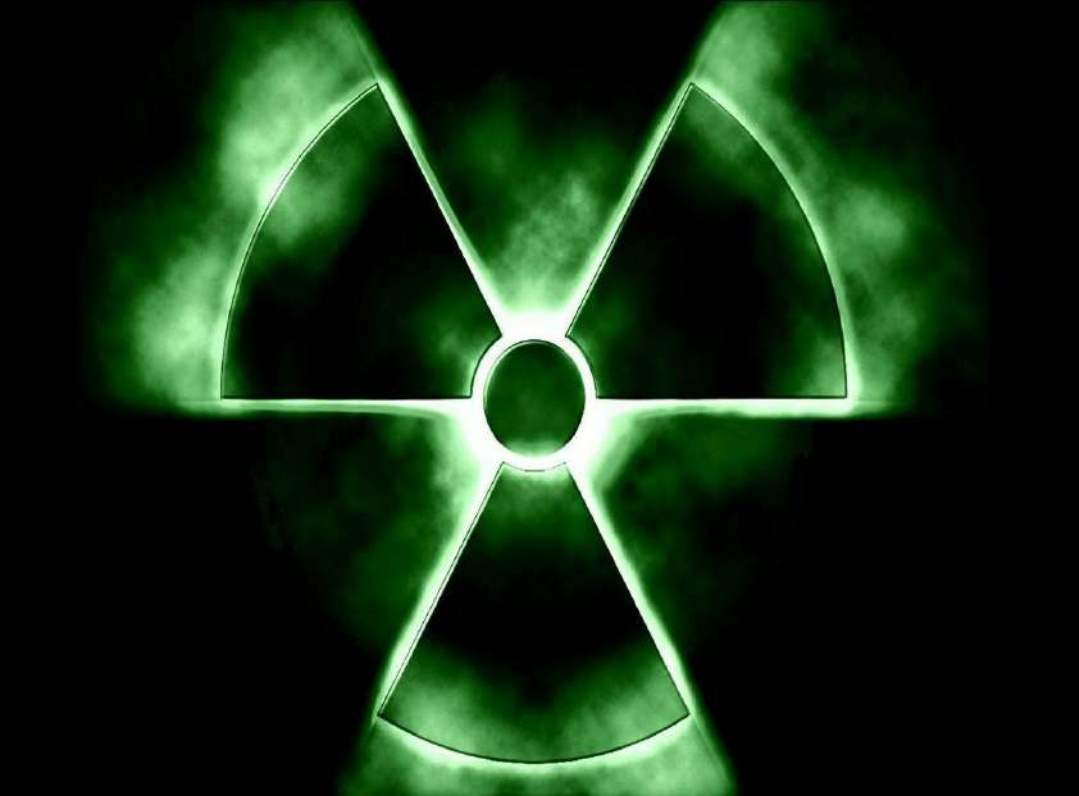
Yamanouchi S. et al. Plasma mitochondrial DNA levels in patients with trauma and severe sepsis: time course and the association with clinical status. J. Crit. Care. 2013; 28: 1027–1031.

Wang L. et al. Plasma nuclear and mitochondrial DNA levels in acute myocardial infarction patients. Coron. Artery Dis. 2015; 26: 296–300.

Nakahira K. et al. The roles of mitochondrial damage-associated molecular patterns in diseases. Antioxid. Redox Signal. 2015; 23: 1329–1350.

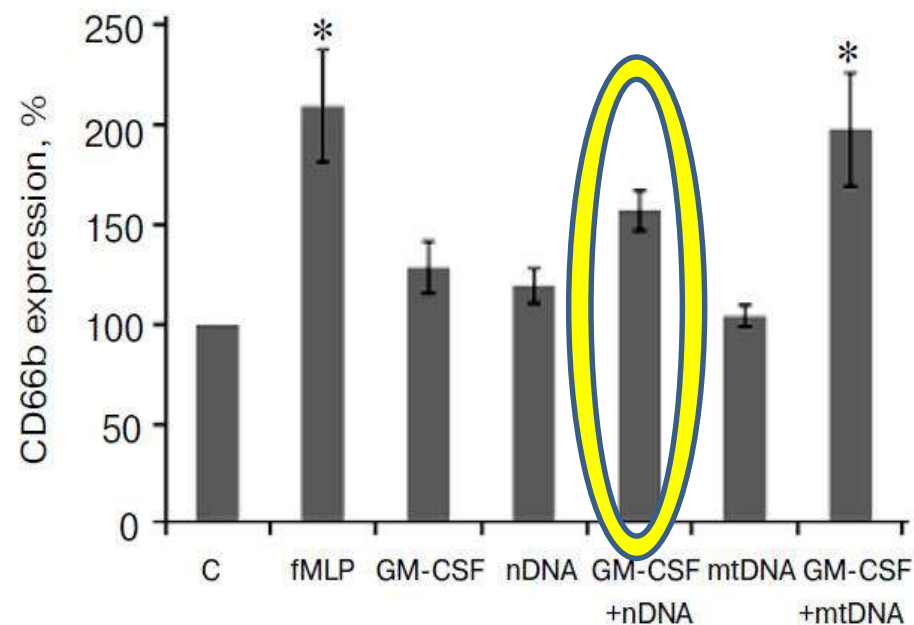
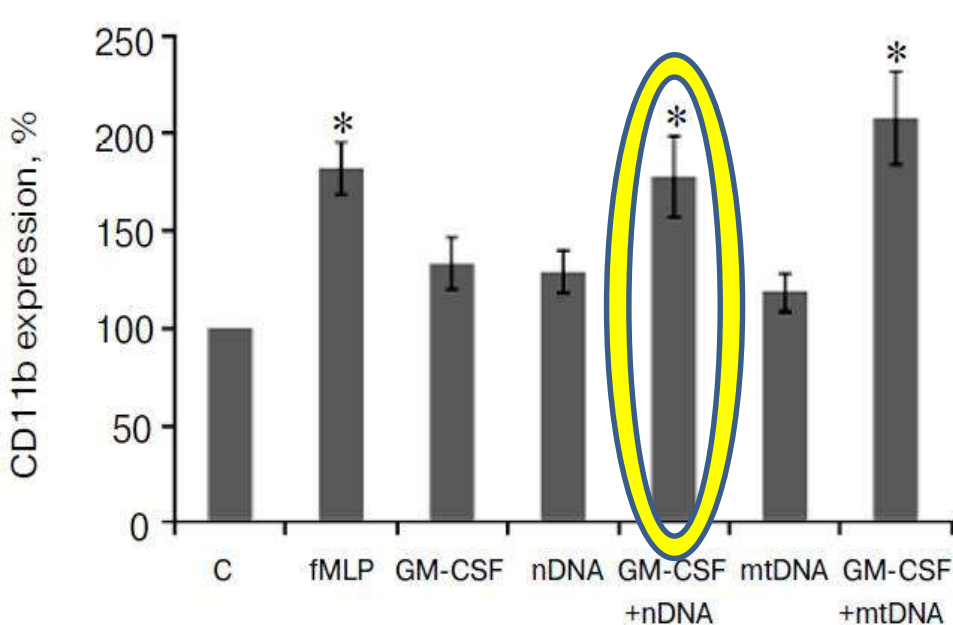
➤ Нейтрофилы одними из первых реагируют на DAMPs, т.к. являются ключевыми в развитии воспаления

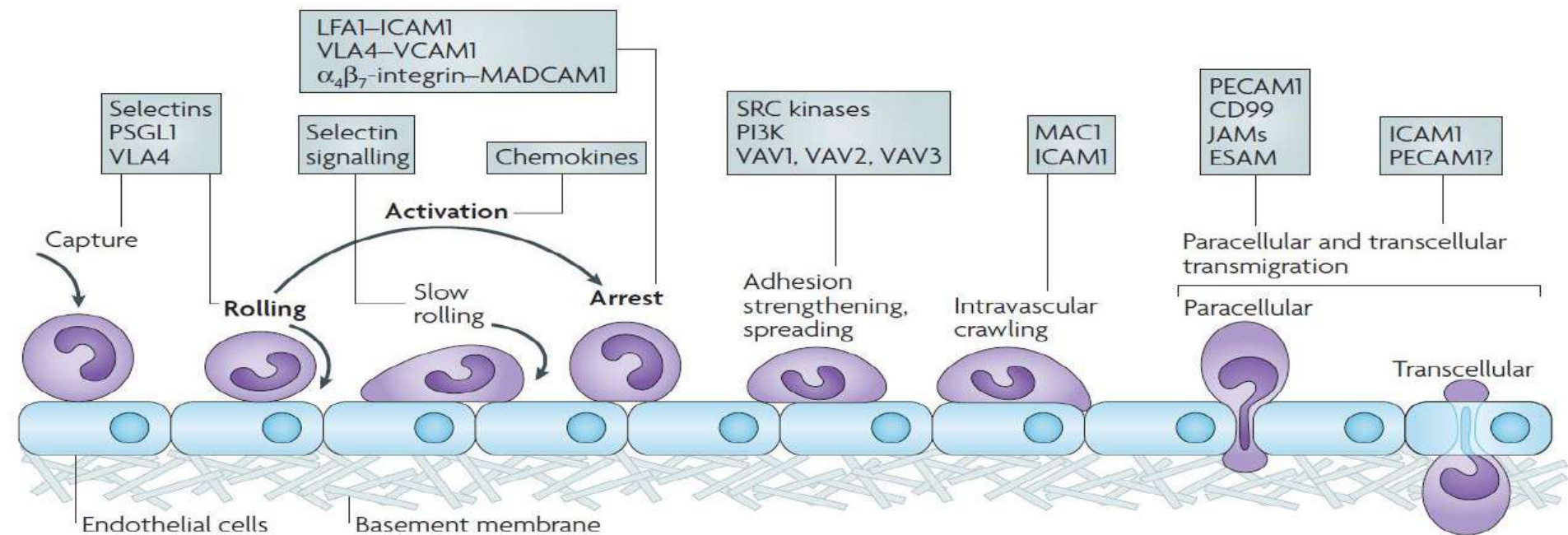




Ядерная ДНК (ядНК)?

- При гибели клетки мало свободной митохондриальной ДНК
- Содержание яДНК в клетке многократно больше, но она другой структуры
- ***яДНК может выступить в роли DAMPs при определенных условиях !!!***





Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 2007, 7:678–689

✓ Воспаление в органах и тканях

Характеристика групп

	Всего	Клапанная хирургия	АКШ без ИК	АКШ+ИК	p (поправка Бонферрони)
n	59	19	20	20	
Пол, М	45 (76%)	13 (68%)	16 (80%)	16 (80%)	<0,017
ФВ, %	62±9	67±8	60±9	60±9	<0,017
Возраст (г)	59±11	53±11	62±9	61±10	0,0167
Время ИК	112±30	115±30	--	110±20	<0,017

Критерий ССВО

Два или более:

- ✓ Температура тела ниже 36°C или выше 38°C
- ✓ Частота сердечных сокращений более 90 в минуту
- ✓ Одышка с ЧДД более 20 в минуту; или парциальное давление двуокиси углерода в артериальной крови ниже 32 mmHg
- ✓ Число лейкоцитов менее $4 \times 10^9/\text{л}$ или более $12 \times 10^9/\text{л}$; или наличие более 10% незрелых нейтрофилов
- ✓ Высокий показатель прокальцитонина

Острое повреждение почек (ОПП)

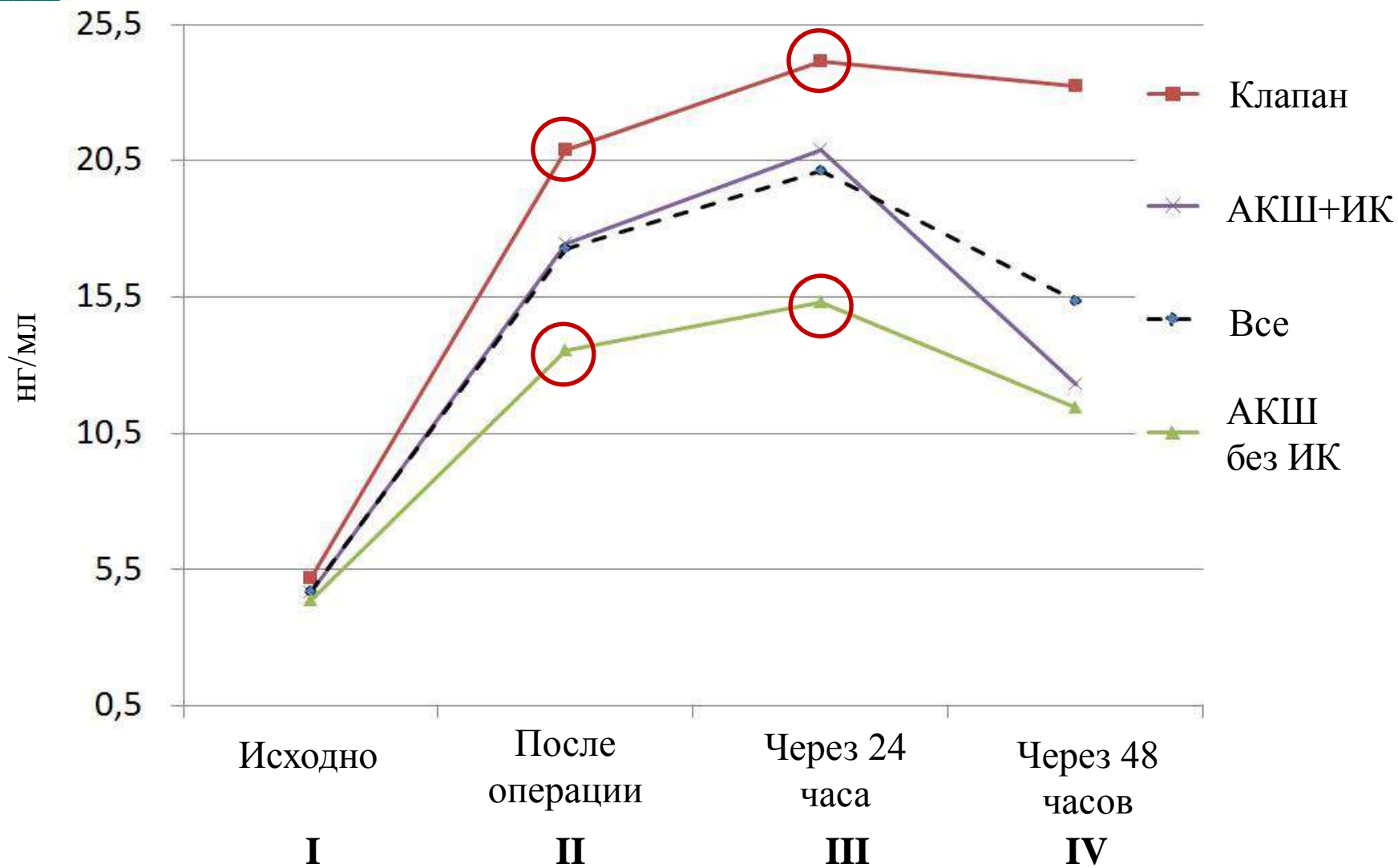
- ✓ Стадия «R» - Risc по шкале RIFLE
- ✓ Повышение креатинина плазмы более 50% от исходных значений



Острая сердечная недостаточность

Inotropic score более 5 в течение 6 часов после операции

Ядерная ДНК (ядНК)

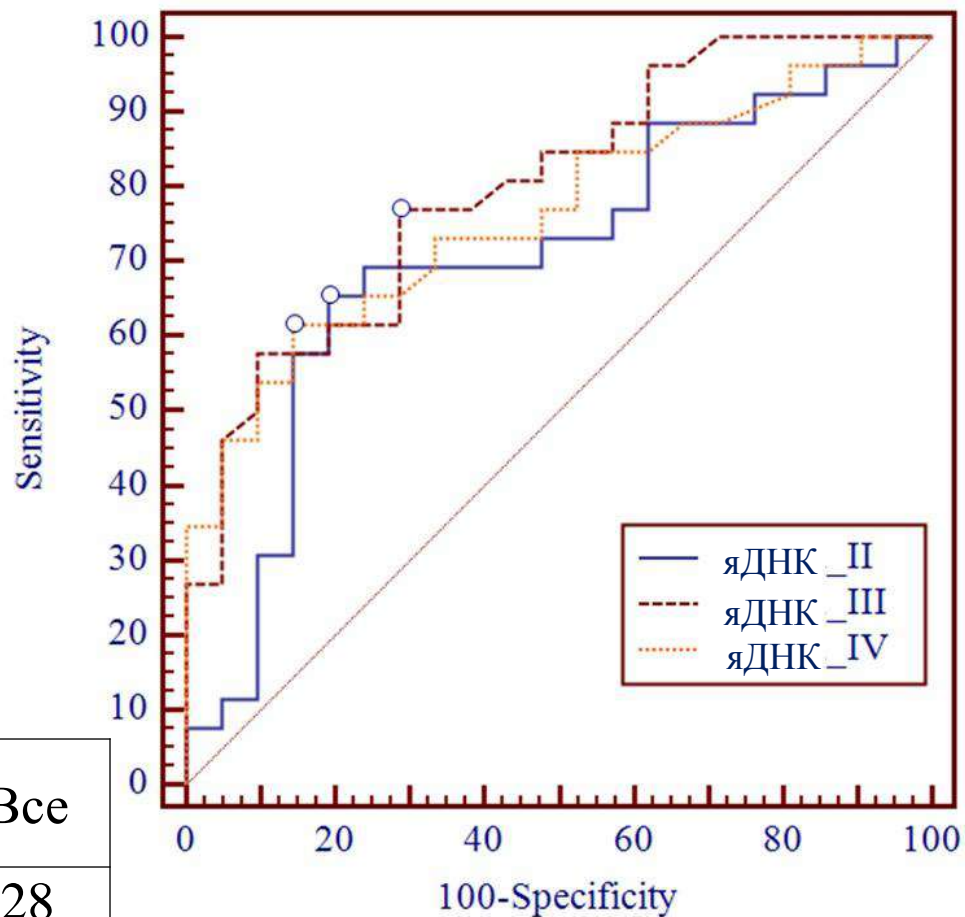


○ - $p < 0,05$ между группами

ROC-кривые для ССВО

	AUC
яДНК II	0,71
яДНК III	0,80
яДНК IV	0,76

Разница между площадями
 $p > 0,1$



	Клапан	АКШ без ИК	АКШ+ИК	Все
ССВО+	10	9	9	28
ССВО-	6	11	9	26
	63%	45%	50%	52%
	$p > 0,1$			

яДНК в послеоперационном периоде для прогнозирования ССВО

Индекс Юдена 0,44

Ассоциированный критерий >16,5 нг/мл

Чувствительность 78%

Специфичность 67%

	>16,5	<16,5
ССВО+	21	7
ССВО-	8	18
	72%	28%
	p=0,003	

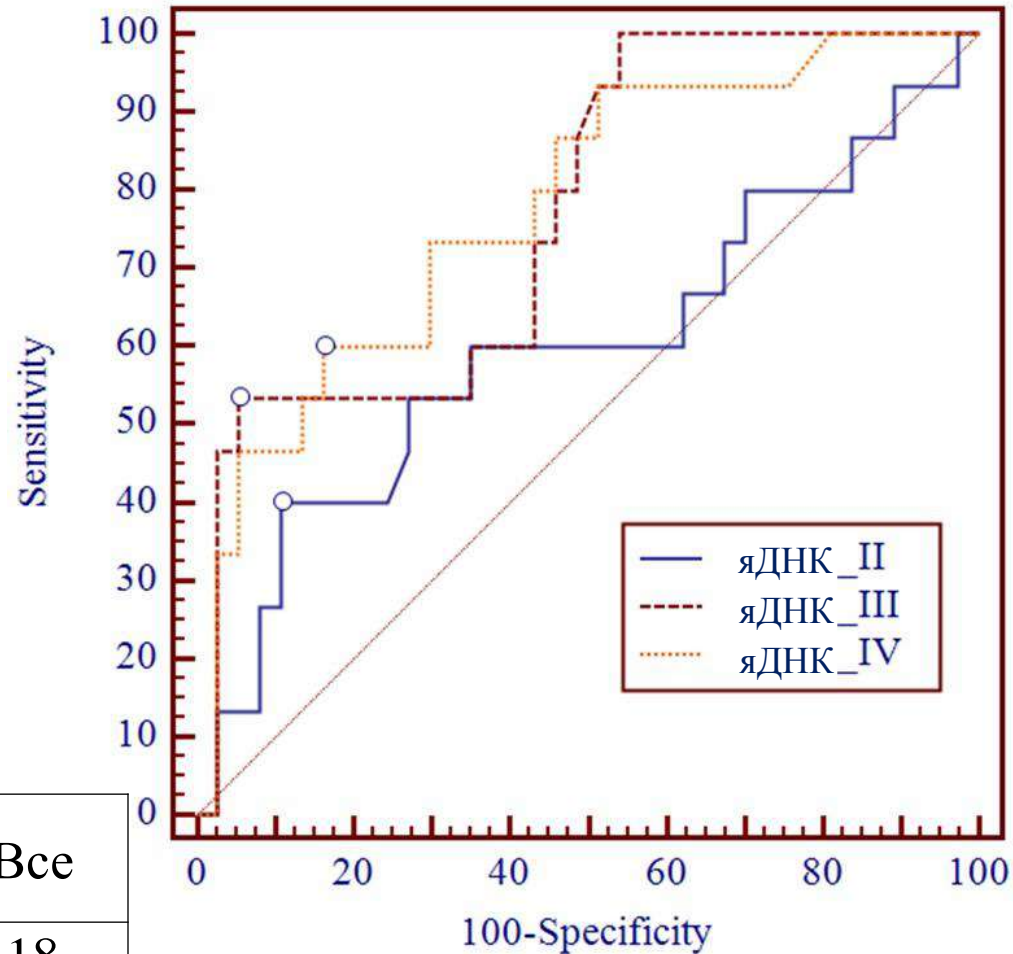
Odds ratio 0,3867
95% CI 0,141 to 1,0605
z statistic 1,846
Significance level P = 0,0649

ROC-кривые для ОПП

	AUC
ядНК II	0,60
ядНК III	0,77
ядНК IV	0,78

Разница между площадями
 $p > 0,1$

	Клапан	АКШ без ИК	АКШ+ ИК	Все
ОПП+	8	5	5	18
ОПП-	11	15	15	41
	42%	25%	25%	31%
$p > 0,1$				



яДНК в послеоперационном периоде для прогнозирования ОПП

Индекс Юдена 0,54

Ассоциированный критерий >25,8 нг/мл

Чувствительность 59%

Специфичность 95%

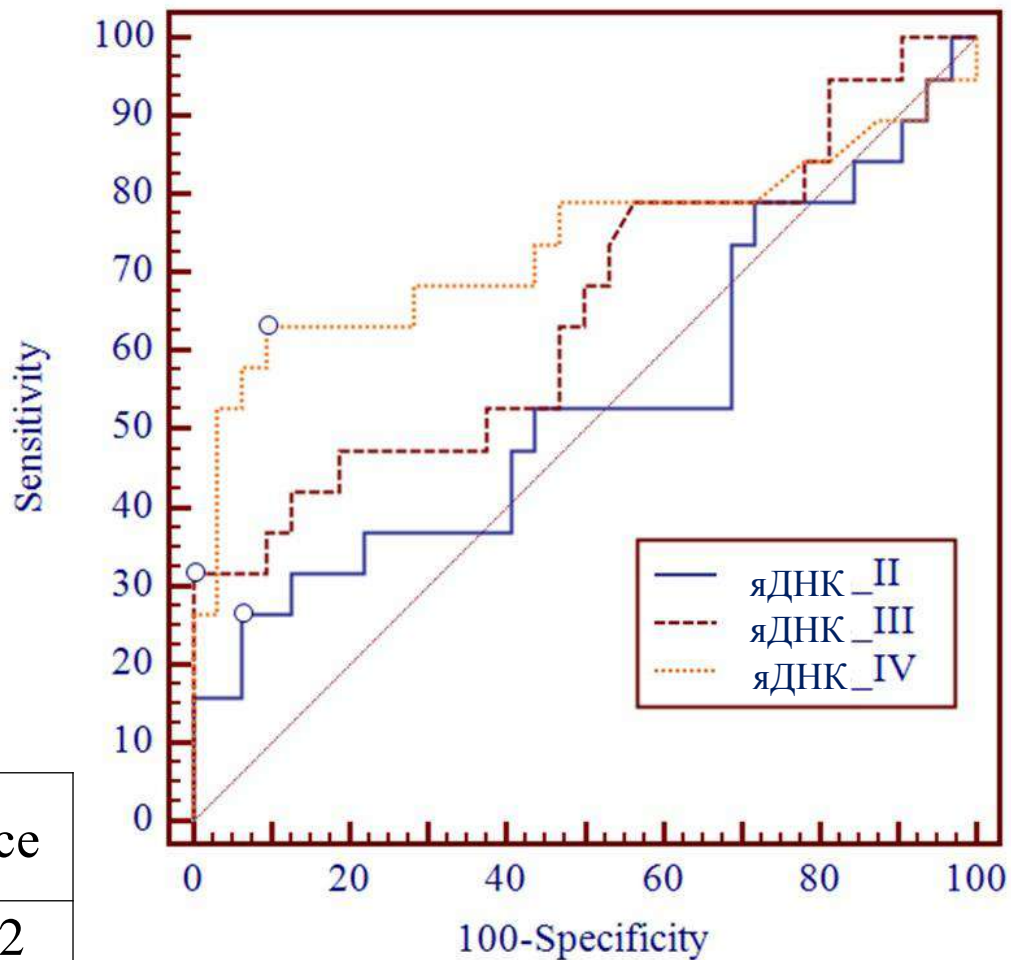
	>25,8	<25,8
ОПП+	15	7
ОПП-	15	37
	50%	16%
	p=0,008	

Odds ratio 5,2857
95% CI 1,7963 to 15,5535
z statistic 3,024
Significance level P = 0,0025

ROC-кривые для ОСН

	AUC
яДНК II	0,54
яДНК III	0,65
яДНК IV	0,74

Разница между площадями
яДНК_II и яДНК_IV $p=0,02$



	Клапан	АКШ без ИК	АКШ+ ИК	Все
ОСН+	11	4	7	22
ОСН-	8	14	13	35
	58%	22%	35%	39%
	$p>0,08$			

яДНК в послеоперационном периоде для прогнозирования ОСН

Индекс Юдена 0,56

Ассоциированный критерий >14 нг/мл

Чувствительность 65%

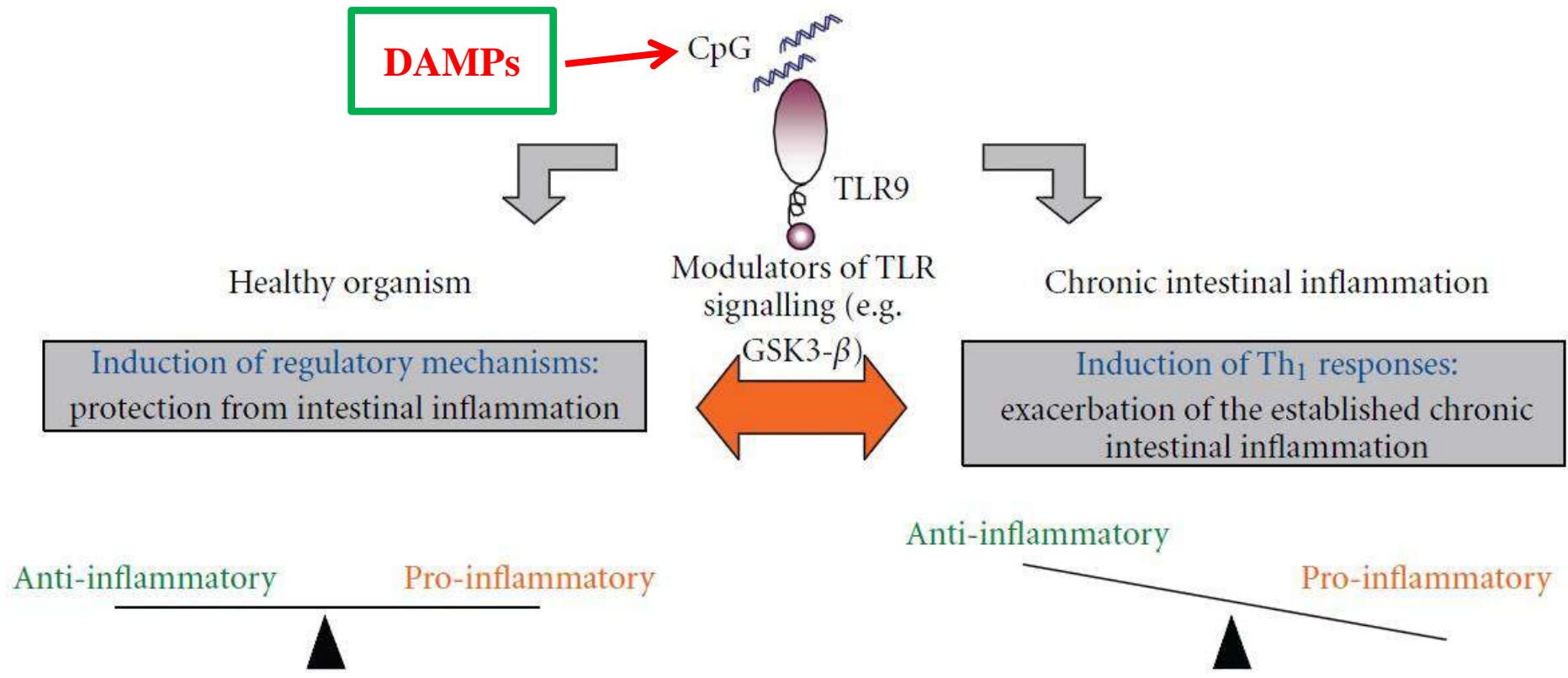
Специфичность 91%

	>14	<14
ОСН+	15	7
ОСН	6	29
	71%	19%
p=0,0001		

Odds ratio 10,3571
95% CI 2,9495 to 36,3691
z statistic 3,648
Significance level P = 0,0003



?

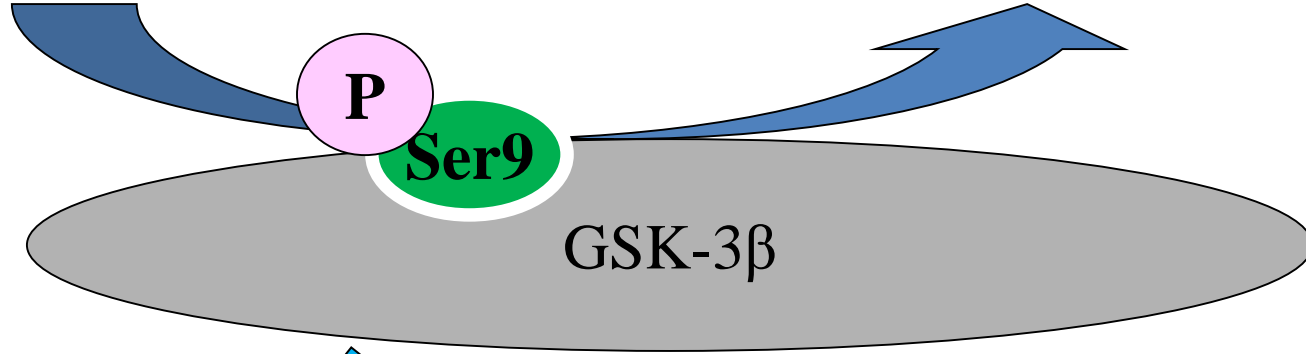


Obermeier F., Hofmann C., Falk W. Inflammatory Bowel Diseases: When Natural Friends Turn into Enemies — The Importance of CpGMotifs of Bacterial DNA in Intestinal Homeostasis and Chronic Intestinal Inflammation. International Journal of Inflammation. 2010: 641910

Воспаление

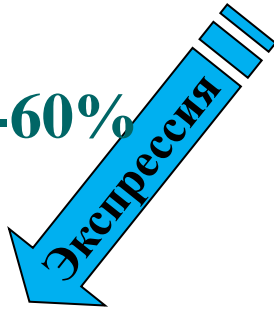
Фосфорилирование

Инактивация



Моноцит

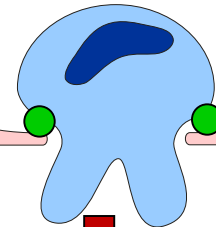
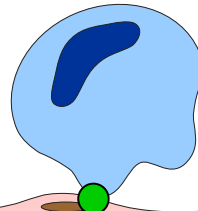
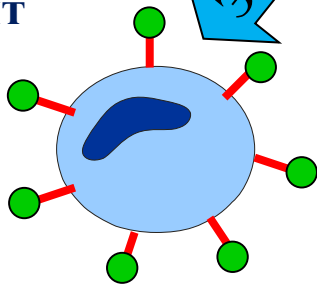
↓40-60%



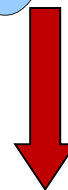
↓60%



↓85%



ГЭБ



Rom S, Fan S, Reichenbach N, Dykstra H, Ramirez SH, Persidsky Y. Glycogen synthase kinase 3β inhibition prevents monocyte migration across brain endothelial cells via Rac1-GTPase suppression and down-regulation of active integrin conformation. *Am J Pathol.* 2012 Oct;181(4):1414-25.

GSK-3 β и воспаление

Селективное угнетение GSK-3 β :

- ✓ Уменьшение степени повреждения спинного мозга, нейтрофильной инфильтрации, апоптоза нейронов на модели повреждения спинного мозга у крыс

Cuzzocrea S, Genovese T, Mazzon E, Crisafulli C, et al. Glycogen synthase kinase-3 beta inhibition reduces secondary damage in experimental spinal cord trauma. J Pharmacol Exp Ther. 2006 Jul;318(1):79-89.

- ✓ Снижение лабораторных признаков печеночной и почечной недостаточности; снижение уровня провоспалительного IL-6; уменьшение нейтрофильной и макрофагальной миграции в легкие, почки и печень на модели острой кровопотери у крыс

Dugo L, Abdelrahman M, Murch O, Mazzon E, Cuzzocrea S, Thiernemann C. Glycogen synthase kinase-3beta inhibitors protect against the organ injury and dysfunction caused by hemorrhage and resuscitation. Shock. 2006 May;25(5):485-91.

GSK-3 β и воспаление

Селективное угнетение GSK-3 β :

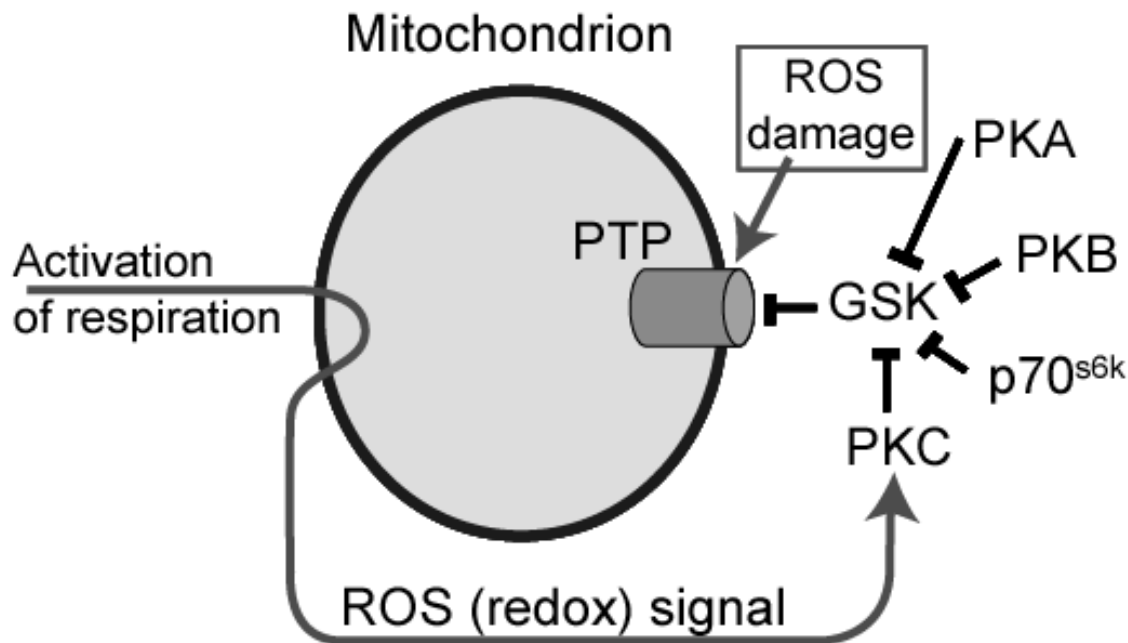
- ✓ Снижение лабораторных признаков печеночной и почечной недостаточности; уменьшение экспрессии мРНК провоспалительных медиаторов в биоптатах легких на модели эндотоксемии у крыс

Dugo L, Collin M, Allen DA, Patel NS, Bauer I, Mervaala EM et al. GSK-3beta inhibitors attenuate the organ injury/dysfunction caused by endotoxemia in the rat. Crit Care Med. 2005 Sep;33(9):1903-12.

Memory-associated signaling

(“Preconditioning”)

- IPC
- Sevoflurane
- Isoflurane
- δ -Opioid
- Bradykinin
- Adenosine*
- Leptin
- CSA
- SFA



Memory-lacking signaling

- Insulin
- IGF
- Adenosine*
- GLP-1
- β_2 -AR
- Li⁺
- SB
- Erythropoietin
- Estrogen

АДАПТИРОВАНО ИЗ: Juhaszova M., Zorov D.B., Kim S.H., Pepe S., Fu Q., Fishbein K.W., Ziman B.D., Wang S., Ytrehus K., Antos C.L., Olson E.N., Sollott S.J. Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest.* 2004; 113 (11): 1535-1549.

Выводы

- Динамика нарастания концентрации яДНК у кардиохирургических больных, является маркером клеточного цитолиза
- яДНК обладает достаточной ценностью в прогнозировании развития послеоперационных осложнений
- Требуется дальнейшее изучение роли внеклеточной ДНК в патогенезе системного воспалительного ответа и ее возможного применения в качестве предиктора органной дисфункции и инфекционных осложнений



Благодарю за
внимание