DOI: 10.22625/2072-6732-2018-10-4-48-52

ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ И ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Г.А. Мухетдинова, Р.М. Фазлыева, Д.А. Валишин, Г.М. Хасанова, Р.Г. Яппаров Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Thrombocytopenia and endothelial dysfunction in hemorrhagic fever with renal syndrome G.A. Mukhetdinova, R.M. Fazlyeva, D.A. Valishin, G.M. Khasanova, R.G. Yapparov Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Резюме

Цель: оценить содержание тромбоцитов и sPселектина при геморрагической лихорадке с почечным синдромом различной степени тяжести.

Материалы и методы: проведено клинико-лабораторное обследование 220 больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом, в том числе легкой (52), среднетяжелой (112) и тяжелой (56) форм. Количественное содержание sP-селектина в сыворотке крови определено методом иммуноферментного анализа у 90 пациентов (по 30 человек из каждой группы).

Результаты: тромбоцитопения у больных с легкой формой заболевания в первые дни поступления в стационар была умеренной степени. При среднетяжелой и тяжелой формах заболевания в начальном периоде уровень тромбоцитов — ниже 100×10⁹/л; корреляционный анализ между уровнем тромбоцитов и содержанием креатинина выявил обратную связь между содержанием тромбоцитов в начальном периоде и уровнем креатинина в олигурическом периоде (г=-0,526; p=0,029). Различия в содержании sP-селектина статистически значимы не только с контрольной группой, но и между группами пациентов в зависимости от тяжести заболевания, при всех формах заболевания выявлена корреляция между содержанием тромбоцитов и уровнем sP-селектина.

Заключение: активность sP-селектина и степень тромбоцитопении тесно взаимосвязаны между собой и характеризуют тяжесть заболевания.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, тромбоцитопения, sP-селектин.

Введение

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) — острая вирусная природноочаговая инфекция, характеризующаяся генерализованным вовлечением мелких сосудов, геморрагическим диатезом, гемодинамическими расстройствами и поражением почек по типу острого тубулоинтерстициального нефрита с развитием острой почечной недостаточности [1]. Клиническая картина ГЛПС, ассоциированной с разными серотипами хантавирусов, демонстрирует сходство основных проявлений болезни, которыми являются: острое начало, лихорадка, общеток-

Abstract

Purpose: to estimate the content of platelets and sP-selectin in patients with different severity of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome.

Materials and methods: we have conducted the clinical and laboratory examination of 220 patients with Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, including mild (52), moderate (112) and severe (56) forms. The quantitative content of sP-selectin in blood serum was determined by enzyme immunoassay in 90 patients (30 people from each group).

Results: during first days of admission to the hospital thrombocytopenia in patients with mild form of HFRS was moderate. For moderate and severe forms of HFRS during the initial period the average value of the platelet was less than 100×10^9 /l; correlation analysis between platelet count and creatinine level revealed an inverse relationship between the platelet count during the initial period and the level of creatinine during the oliguric period (r=-0,526; p=0,029). The difference in the content of sP-selectin are statistically significant not only with the control group, but also between groups of patients depending on the severity of the disease, a correlation between the content of platelets and sP-selectin was revealed in all groups of patients.

Conclusion: the activity of sP-selectin and the degree of thrombocytopenia are closely interrelated and characterize the severity of the disease.

Key words: Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome, thrombocytopenia, sP-selectin.

сические явления, ДВС-синдром, поражение почек и симптомы нарушения функций различных органов, вовлеченных в инфекционный процесс [2]. У части пациентов, как правило, при тяжелых формах встречаются абдоминальный [3] и респираторный синдромы [4].

Тромбоцитопения — характерный, но не патогномоничный гематологический симптом острого периода у больных ГЛПС. При этом тяжесть тромбоцитопении, по данным ряда авторов, не коррелирует с нарушением функции почек, но зависит от выраженности воспаления [5]. Хантавирусы проявляют тропизм к эндотелиальным клеткам.

Основным патологическим изменением в эндотелиоцитах является усиленная сосудистая проницаемость, которая связана с эндотелиальной активацией, повышением экспрессии адгезивных молекул, включая селектины, молекулы межклеточной и сосудистой адгезии. Р-селектин находится в особых гранулах эндотелиальных клеток — «тельцах Вейбеля — Паладе» и в альфа-гранулах тромбоцитов. В случае повреждения ткани и последующей активации эндотелия sP-селектин способен быстро высвобождаться из клетки, в связи с чем он относится к маркерам дисфункции эндотелия. Учитывая ведущую роль дисфункции эндотелия и активации тромбоцитов в патогенезе ГЛПС, на наш взгляд, изучение sP-селектина при данном заболевании представляет особый интерес [6].

Цель исследования — оценить содержание тромбоцитов и sP-селектина при геморрагической лихорадке с почечным синдромом различной степени тяжести.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 220 больных ГЛПС. Преобладали мужчины — 180 (81,8%) пациентов, женщин было 40 (18,2%), что еще раз подчеркивает гендерные различия при ГЛПС. В 1 группу включено 52 пациента с легкой формой ГЛПС, мужчин — 39 (75%), женщин — 13 (25%); в возрасте от 18 до 53 лет, средний возраст составил 31,27 \pm 10,20 лет. Во 2 группу включено 112 пациентов со среднетяжелой формой ГЛПС, мужчин — 94 (83,9%), женщин — 18 (16,1%); в возрасте от 18 до 65 лет, средний возраст составил 35,02 \pm 14,38 лет. В 3 группу включено 56 пациентов с тяжелой формой ГЛПС, мужчин — 47 (83,9%), женщин — 9 (16,1%) в возрасте от 18 до 60 лет, средний возраст составил 36,86 \pm 14,36 лет.

Диагноз ставился на основании клинической картины, характерной для ГЛПС, эпидемиологического анамнеза, данных лабораторных исследований, включая непрямую иммунофлуоресценцию (НМФА) в парных сыворотках (критерием диагностики явилось 4-кратное возрастание титра антител).

Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, без упоминания о ГЛПС в анамнезе, мужчин — 22 (73,3%), женщин — 8 (26,7%); в возрасте от 18 до 45 лет, средний возраст составил $31,96\pm10,8$ лет.

Всем больным было проведено обследование, которое включало общеклинические методы, лабораторные методы — общий анализ крови на автоматическом анализаторе Cobas Micros, общий анализ мочи; биохимические исследования — определение в сыворотке крови следующих показателей — общего белка, билирубина, креатинина,

мочевины, глюкозы, электролитов (калий, натрий), УЗИ почек; серологические методы — выявление специфических антител в парных сыворотках с помощью НМФА, используя коммерческий «Культуральный поливалентный диагностикум ГЛПС для выявления антител непрямым МФА» производства ФГУП ПИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН. Исследование биохимических показателей проводилось в стационаре в стандартных условиях.

Определение количественного содержания sP-селектина в сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием «иммуноферментного набора для количественного определения растворимого человеческого sP-селектина в человеческой сыворотке, плазме, амниотической жидкости, культуральной среде и других биологических жидкостях» фирмы Bender MedSystems. Исследование с применением метода ИФА проведено в исследовательском центре «Лаборатория» (руководитель — профессор А.Р. Мавзютов, г.Уфа).

Статистический анализ включал: методы описательной статистики с расчетом «меры центральной тенденции» и «меры рассеяния» признака. При нормальном распределении данных в качестве «меры центральной тенденции» использовали среднее арифметическое (М), а «меры рассеяния» - среднее квадратическое (стандартное) отклонение (σ). При распределении признака, отличающегося от нормального, в качестве меры центральной тенденции использовали медиану (Ме), а в качестве меры рассеяния - первый и третий квартили (Q₁; Q₂). Оценка нормальности распределения признака проводилась с использованием критерия Колмогорова - Смирнова. Проверку гипотез при сравнении количественных величин в двух независимых группах проводили с использованием параметрического t-критерия Стьюдента (при нормальном распределении признака) или непараметрического U-критерия Манна — Уитни (при распределении признака, отличающегося от нормального). Для анализа взаимосвязи двух признаков проводили корреляционный анализ по Спирмену. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при р<0,05, статистически высокозначимыми при р<0,01. Вычисления и анализ выполнялся с использованием программы STATISTICA.

Результаты и обсуждение

При объективном осмотре классический симптом (инъекция сосудов склер) констатирован у 28,8% больных легкой формой ГЛПС, нарушение зрения отмечали 11,5% пациентов данной группы. Геморрагический синдром при легкой форме заболевания не выражен. Видимые геморрагии у пациентов отсутствовали, и только у 1 пациента наблюдалась макрогематурия.

ЖУРНАЛ ИНФЕКТОЛОГИИ Том 10, № 4, 2018 **49**

При среднетяжелой форме инъекция сосудов склер наблюдалась у 62,5% пациентов, т.е. в 2,2 раза чаще, чем при легкой форме заболевания. Геморрагический синдром клинически проявлялся кровоизлияниями в склеры (13/11,6%), в подкожную клетчатку в местах инъекций (17/15,2%), носовыми кровотечениями (10/8,9%), макрогематурией (20/17,9%).

У пациентов тяжелой формой ГЛПС геморрагический синдром проявлялся кровоизлияниями в склеры (17,9%), в подкожную клетчатку в местах инъекций (41,7%), носовыми (21,4%) и желудочнокишечными (8,9%) кровотечениями; в анализах мочи — макрогематурия (28,6%); микрогематурия (100%).

Тромбоцитопения у больных легкой формой ГЛПС в первые дни поступления в стационар была умеренной степени, данный показатель высокозначимо отличался не только от контрольного значения, но и от соответствующего показателя в олиго- и полиурическом периодах (табл.). В олигоурическом периоде уровень тромбоцитов несколько повысился, но был статистически значимо ниже и контрольного значения, и показателя полиурического периода. В полиурическом периоде уровень тромбоцитов несколько превысил контрольное значение, но различия незначимы. Корреляционный анализ не выявил зависимости между уровнем тромбоцитов и содержанием креатинина в сыворотке крови при легкой форме ГЛПС.

При среднетяжелой и тяжелой формах заболевания в начальном периоде среднее значение уровня тромбоцитов ниже 100×10^9 /л, различия высокозначимы как с контрольной группой, так и с группой пациентов с легкой формой заболевания.

При этом тромбоцитопения при тяжелой форме заболевания более выражена и сохраняется длительное время. Следует отметить прогностическое значение тромбоцитопении: корреляционный анализ между уровнем тромбоцитов и содержанием креатинина выявил статистически значимую обратную связь между содержанием тромбоцитов в начальном периоде и уровнем креатинина в олигурическом периоде (r=-0.526; p=0.029).

Четкая зависимость уровня тромбоцитов от тяжести и периодов заболевания, развитие тромбоцитопении в начале заболевания определенно обусловлены непосредственным участием тромбоцитов в патогенетических механизмах.

Изучение содержания sP-селектина в сыворотке крови было проведено у 90 пациентов ГЛПС в динамике, в том числе у 30 больных — легкой, 30 среднетяжелой и 30 - тяжелой формами заболевания. Следует отметить, что sP-селектин — один из немногих параметров, содержание которого даже при легкой форме заболевания в начальном периоде, равное 355,3 (318,4; 480,9) нг/мл, выше контрольного значения (р. <0,001). При среднетяжелой форме в начальном периоде медиана показателя, равная 690,1 нг/мл, в 3,6 раза превышает контрольное значение ($p_{v} < 0.001$) и в 1,9 раза значение при легкой форме (p<0,001). При тяжелой форме ГЛПС медиана, равная 851,3 нг/мл, превышает контрольное значение в 4,5 раза, а максимальный показатель в этой группе более чем в 8 раз превышает медиану контрольной группы. Различия статистически значимы не только с контрольной группой, но и между группами пациентов в зависимости от тяжести заболевания. В олигурическом периоде при легкой и среднетяжелой формах за-

Tаблица Содержание тромбоцитов (×10 9 /л) у больных ГЛПС различной степени тяжести

Степень тяжести	Начальный период	Олигурический период	Полиурический период	Контроль
Легкая форма	$\begin{array}{c} 127,1\pm47,8\\ p_{\kappa}\!<\!0,\!0001\\ p_{o}\!=\!0,\!0005\\ p_{\pi}\!<\!0,\!0001 \end{array}$	$\begin{array}{c} 162,9 \pm 53,6 \\ p_{\kappa} < 0,0001 \\ p_{o} = 0,0005 \\ p_{\pi} < 0,0001 \end{array}$	289,8±69,8 p _H <0,0001 p _o <0,0001	266,9±64,0
Среднетяжелая форма	$78,1\pm20,5\\p_{\kappa}<0,0001\\p_{o}<0,0001\\p_{\pi}<0,0001\\p_{1}<0,0001$	$138,5 \pm 46,8$ $p_{\kappa} < 0,0001$ $p_{u} < 0,0001$ $p_{n} < 0,0001$ $p_{1} = 0,039$	309.0 ± 89.9 $p_{\kappa} = 0.038$	266,9±63,9
Тяжелая форма	$\begin{array}{c} 65.7 \pm 22.6 \\ p_{\kappa} < 0.0001 \\ p_{n} < 0.0001 \\ p_{1} < 0.0001 \\ p_{2} = 0.022 \end{array}$	$77,2\pm41,4\\p_{\kappa}<0,0001\\p_{\pi}<0,0001\\p_{1}<0,0001\\p_{2}<0,0001\\p_{2}<0,0001$	270,3±95,4 p _n <0,0001 p _o <0,0001	266,9±63,9

p- статистически значимый показатель достоверности $p_{_{\rm K}}-$ с контрольной группой, $p_{_1}-$ с группой пациентов с легкой формой, $p_{_2}-$ с группой пациентов среднетяжелой формой, $p_{_{\rm H}}-$ с начальным периодом, $p_{_0}-$ с олигурическим периодом, $p_{_{\rm H}}-$ с полиурическим периодом.

Том 10, № 4, 2018 ЖУРНАЛ ИНФЕКТОЛОГИИ

болевания (рис. а, б) наблюдается незначительное снижение концентрации sP-селектина, но его уровень все еще превышает контрольное значение. При тяжелой форме заболевания в олигурическом периоде, наоборот, отмечена тенденция к повышению этого показателя (рис. в). К концу полиурического периода медиана показателя при легкой форме заболевания чуть ниже контрольного значения, а при среднетяжелой форме сопоставима с ним. При тяжелой форме заболевания сохраняется повышение данного показателя в сравнении с контролем ($p_{\kappa} = 0.046$).

Проведен корреляционный анализ содержания sP-селектина в сыворотке крови и уровня тромбоцитов. При легкой форме заболевания статистически значимая обратная зависимость средней силы отмечена в начальном периоде (r = -0,543; p = 0,036). При среднетяжелой форме обратная корреляционная зависимость выявлена во всех периодах заболевания, сила связи в динамике изменялась от

сильной в начальном периоде (r=-0,880; p<0,001) до средней в олигурическом (r=-0,635; p=0,004) и полиурическом (r=-0,564; p=0,015) периодах. При тяжелой форме заболевания сильная обратная связь между вышеуказанными параметрами наблюдалась как в начальном (r=-0,960; p<0,001), так и в олигурическом (r=-0,878; p<0,001) периодах; в полиурическом периоде сила связи была средней (r=-0,671; p=0,006).

Полученные нами результаты несколько отличаются от данных исследования Bodur H. et al. (2010) по определению молекул межклеточной адгезии при конго-крымской геморрагической лихорадке, в котором отмечено, что уровень sP-селектина у пациентов был ниже, чем в контрольной группе [7]; но в полной мере согласуются с результатами Connolly-Andersen A.M. et al. (2015), отметивших значительную активацию тромбоцитов и возрастание уровня sP-селектина у пациентов ГЛПС [8].

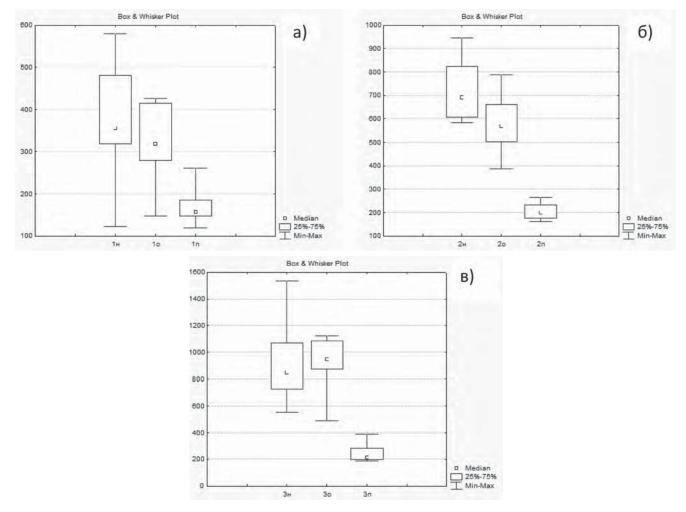


Рис. Динамика концентрации sP-селектина в нг/мл при легкой (а), среднетяжелой (б) и тяжелой (в) формах заболевания

ЖУРНАЛ ИНФЕКТОЛОГИИ Том 10, № 4, 2018 51

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют, что активность sP-селектина и степень тромбоцитопении тесно взаимосвязаны между собой и характеризуют тяжесть заболевания: чем тяжелее заболевание, тем выше активность sP-селектина и ниже уровень тромбоцитов; чем тяжелее заболевание, тем длительнее сохраняется активность sP-селектина и тромбоцитопения.

Выявленное нами повышение уровня sPселектина, основным источником которого являются тромбоциты, и в меньшей степени эндотелиоциты, свидетельствует о нарушениях в системе сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Все это, в свою очередь, может играть пусковую роль в развитии ДВС-синдрома, являющегося обязательным компонентом при среднетяжелой и тяжелой формах ГЛПС.

Литература

- 1. Валишин, Д.А. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом / Д.А. Валишин, Ю.Я. Венгеров // Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 835-843.
- 2. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом / Р.А. Слонова [и др.] Владивосток, 2006. 246 с.
- 3. Павлов, В.Н. Абдоминальный синдром у больных с тяжелой формой геморрагической лихорадки и острой почечной недостаточностью / В.Н. Павлов [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. 2015. Т. 10, № 3. С.106 108.
- 4. Фазлыева, Р.М. Pathology of the lungs in hemorrhagic fever with renal syndrome / Р.М. Фазлыева, Г.А. Мухетдинова // Казанский медицинский журнал. 2011. Т. 92, № 2. С. 237—240.

- 5. Outinen TK, Laine OK, Mäkelä S, et al. Thrombocytopenia associates with the severity of inflammation and variables reflecting capillary leakage in Puumala Hantavirus infection, an analysis of 546 Finnish patients. Infect Dis (Lond). 2016 Sep;48(9):682-7.
- 6. Мухетдинова, Г.А. Изучение содержания Р-селектина у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом / Г.А. Мухетдинова, Р.М. Фазлыева, Д.Х. Хунафина, Н.А. Кудашева // Инфекционные болезни. 2012. Т.10, прил. № 1. С. 265-266.
- 7. Bodur H., Akinci E., Ongürü P. et al. Evidence of vascular endothelial damage in Crimean-Congo hemorrhagic fever. Int. J. Infect. Dis. 2010. Aug; 8.704-7.
- 8. Connolly-Andersen AM, Sundberg E, Ahlm C. et al. Increased Thrombopoiesis and Platelet Activation in Hantavirus-Infected Patients. J Infect Dis. 2015 Oct 1;212(7):1061-9.

References

- 1. Valishin D.A. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome / D.A. Valishin, Yu.Ya. Vengerov // Infectious diseases: national guidelines / ed. N.D. Yushchuka, Yu.Ya. Vengerova. M.: GEOTAR-Media, 2009. P. 835-843 (in Russian).
- 2. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome / R.A. Slonova et al. Vladivostok, 2006 (in Russian).
- 3. Pavlov V.N., Kazikhinurov A.A., Safiullin R.I. et al. Meditsinskiy vestnik Bashkortostana. 2015; 3:106-8 (in Russian).
- 4. Fazlyeva R.M., Mukhetdinova G.A. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal. 2011; 2: 237-40 (in Russian).
- 5. Outinen TK, Laine OK, Mäkelä S, et al. Thrombocytopenia associates with the severity of inflammation and variables reflecting capillary leakage in Puumala Hantavirus infection, an analysis of 546 Finnish patients. Infect Dis (Lond). 2016 Sep;48(9):682-7.
- 6. Mukhetdinova G.A., Fazlyeva R.M., Khunafina D.Kh.., Kudasheva N.A. Infektsionnye bolezni. 2012; 10(1):265-6.
- 7. Bodur H., Akinci E., Ongürü P. et al. Evidence of vascular endothelial damage in Crimean-Congo hemorrhagic fever. Int. J. Infect. Dis. 2010. Aug; 8.704-7.
- 8. Connolly-Andersen AM, Sundberg E, Ahlm C. et al. Increased Thrombopoiesis and Platelet Activation in Hantavirus-Infected Patients. J Infect Dis. 2015 Oct 1;212(7):1061-9.

Авторский коллектив:

Мухетдинова Гузель Ахметовна — профессор кафедры факультетской терапии Башкирского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(347)273-92-82, e-mail: gmukhetdinova@yandex.ru

Фазлыева Раиса Мугатасимовна — профессор кафедры факультетской терапии Башкирского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(347)273-92-82, e-mail: renleila@mail.ru

Валишин Дамир Асхатович — заведующий кафедрой инфекционных болезней с курсом ИДПО Башкирского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор; тел.: 8(347)250-18-88, e-mail: damirval@yandex.ru

 $\it Xacahoba$ $\it \Gamma yзeль$ $\it Mupracumobha$ — профессор кафедры инфекционных болезней с курсом ИДПО Башкирского государственного медицинского университета, д.м.н., доцент; тел.: 8(347)250-18-88, e-mail: nail_ufa1964@mail.ru

Яппаров Рафаэль Галиевич — ассистент кафедры инфекционных болезней с курсом ИДПО Башкирского государственного медицинского университета; тел.: 8(347)250-18-88, e-mail: rafdoc@yandex.ru

Том 10, № 4, 2018 ЖУРНАЛ ИНФЕКТОЛОГИИ