

УДК: 616.921.5: 616-079.3

ДІАГНОСТИЧНА ТА ПРАКТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ ДЕЯКИХ МАРКЕРІВ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІЮ ПРИ ГРИПІ А

Верещагіна О.І.

Одесский национальный медицинский университет, vereshchaginaa8@gmail.com

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ НЕКОТОРЫХ МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ГРИППЕ А

Верещагіна А.И.

*Одесский национальный медицинский университет,
vereshchaginaa8@gmail.com*

DIAGNOSTIC AND PRACTICAL SIGNIFICANCE OF SOME MARKERS OF ENDOTHELISM DYSFUNCTION IN A INFLUENZA

Vereshchagina O.I.

Odessa National Medical University, vereshchaginaa8@gmail.com

Резюме (Summary)

Своечасна оцінка морфо-функціональних властивостей ендотелію допомагає спрогнозувати течію грипу та своєчасно усунути можливі ускладнення завдяки медикаментозній корекції, що особливо важливо в період відсутності функціональних органних порушень.

У статті проаналізовано роль ендотеліальної дисфункції (ЕД) в патогенезі грипу А. У 158 хворих на грип визначали маркери ЕД — рівень циркулюючих ендотеліальних клітин, вміст метаболітів оксиду азоту та церулоплазмину в сироватці крові хворих на грип А.

Ключові слова: грип, циркулюючі ендотеліальні клітини, дисфункція ендотелію, церулоплазмін, оксид азоту.

Своевременная оценка морфо-функциональных свойств эндотелия помогает спрогнозировать течение гриппа и своевременно устранить возможные осложнения благодаря медикаментозной коррекции, что особенно важно в период отсутствия функциональных органных нарушений.

В статье проанализирована роль эндотелиальной дисфункции (ЭД) в патогенезе гриппа А. У 158 больных гриппом определяли маркеры ЭД — уровень циркулирующих эндотелиальных клеток, содержание метаболитов оксида азота и церулоплазмину в сыворотке крови больных гриппом А.

Ключевые слова: грипп, циркулирующие эндотелиальные клетки, дисфункция эндотелия, церулоплазмину, оксид азота.

Timely evaluation of the morpho-functional properties of the endothelium can predict the flow of flu and timely eliminate possible complications due to medication correction, which is especially important in the absence of functional organ violations.

The role of endothelial dysfunction (ED) in the pathogenesis of influenza A was analyzed. In 158 patients with influenza, the markers of ED were determined — the level of circulating endothelial cells, the content of nitrogen oxide metabolites and ceruloplasmin in the serum of patients with influenza A.

Key words: *influenza, desquamated endothelial cells, endothelial dysfunction, ceruloplasmin, nitric oxide.*

Вступ

Відкриття впливу ендотелію на регуляцію судинного тону, гемостаз та імунні процеси в організмі людини змінило погляд на поняття патогенезу та методів лікування багатьох захворювань у тому числі інфекційних [1, 3, 6, 8].

Актуальним напрямком досліджень сучасної медицини є пошук нових маркерів, специфічних для ендотелію. Вони можуть мати діагностичне значення як предиктори ЕД ще на доклінічному етапі порушення його функції. Враховуючи щорічні епідемії та спалахи грипу, своєчасна оцінка функціональних властивостей та морфологічні зміни клітин ендотелію судин у хворих на грип, дозволить прогнозувати перебіг та своєчасно запобігати розвитку ускладнень захворювання [4, 5, 10].

Для діагностики порушень функції ендотелію судин при різних патологічних станах досліджують маркери дисфункції ендотелію. Деякі з них можливо застосовувати в практиці з метою скринінгу даної проблеми. Тому, для дослідження порушень функції ендотелію при грипі нами було вибрано найбільш специфічний маркер, що відображає процес гострого пошкодження клітин ендотелію — десквамовані ендотеліальні клітини [6, 12]. Циркулюючі ендотеліальні клітини (ЦЕК) периферичної крові це зрілі диференційовані клітини, які є прямим маркером ЕД. Ураження судин при грипі виникає завдяки токсичній дії вірусу і проявляється підвищенням проникності судин, ламкістю стінок судин, порушенням мікроциркуляції [8]. Для оцінювання функції

онального стану ендотелію також має значення дослідження церулоплазміну (ЦП) — одного з регуляторів ендотеліозалежних процесів та маркеру гострої фази запалення. При гострих ушкодженнях ЦП виявляє властивості протизапального медіатора та антиоксиданту, регулює активність ендотеліоцитів [5]. В комплексі патогенетичних змін при грипі неоднозначна роль відводиться оксиду азоту (NO). За даними наукових робіт відомо, що NO може виступати в ролі окислювача, а також приймати участь у стресорних реакціях в ролі антиоксиданту, який обмежує надмірну активацію АФК [5].

За даними літератури, під впливом токсинів вірусу грипу відбувається активація клітин ендотелію судин. Компенсаторне підвищення концентрації NO у сироватці крові є однією із захисних реакцій у відповідь на інфекційне захворювання, що направлене на елімінацію збудника та зберігання тромборезистентності стінки судин [14].

Але на сьогоднішня у доступній літературі майже немає даних про ступінь ураження ендотелію судин у хворих на грип. Не вивчена залежність цих показників від тяжкості захворювання, також не проводиться медикаментозна корекція ендотеліальної дисфункції при грипі [3, 8, 9, 10, 11].

Матеріали та методи

Під спостереженням знаходилося 158 пацієнтів хворих на грип А, з них у 32 був легкий перебіг, у 62 — середньо тяжкий та 64 хворих були з тяжким грипом. Вік пацієнтів коливався від 18 до 55 років. Критеріями виключення були

вагітність, тяжка соматична патологія та ожиріння. Дослідження проведене на базі клінічної інфекційної лікарні м. Оdesa. Ступінь тяжкості визначали за клінічними проявами та наявністю ускладнень. Для оцінки означених показників було обстежено 30 здорових осіб молодого та середнього віку, що дали згоду на проведення обстеження.

Діагноз грипу встановлювався на підставі епідеміологічних, клінічних та вірусологічних методів дослідження, у дослідження включали тільки хворих з позитивним результатом змивів з носоглотки методом ПЛР на грип А.

Були проведені традиційні методи обстеження (загальний аналіз крові та сечі, біохімічне дослідження крові, рентген органів грудної клітини). Для оцінки маркерів ЕД у сироватці крові хворих визначали вміст сумарного рівня стабільних метаболітів оксиду азоту (NOx) нітратів та нітритів (NO₂+NO₃) за допомогою реактиву Грісу; активність церулоплазміну — методом, заснованим на окисленні п-фенілендіаміну, на спектрофотометрі «Arel PD-303UV» Японія [5]. Визначали інтенсивність десквамації ендотелія за модефікованим методом J. Hladovec з визначенням загальної кількості циркулюючих ендотеліальних клітин (ЦЕК) та їх кількість на різних стадіях апоптозу [12].

Вище означені дослідження проводили під час вступу хворих до стаціонару та на 5 день спостереження.

Пацієнти були розподілені на наступні групи: I група — 31 хворий на легкий грип, II група — 62 хворих на грип середньої тяжкості та III група — 64 хворих на тяжкий грип з нетяжкою пневмонією. З метою контролю отриманих результатів досліджені практично здорові добровольці — 30 осіб, що дали інформовану згоду щодо

обстеження.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали на персональному комп'ютері за допомогою пакетів STATISTICA 10.0, MedCalc 14.8.1 и MicrosoftExcel 2010 с надстройкою AtteStat 12.5, інтернет-калькуляторів SISA — Simple Interactive Statistical Analysis (<http://www.quantitativeskills.com/sisa/>) и WebPagestat Perform Statistical Calculations (<http://statpages.info>).

Отримані результати та їх обговорення.

При дослідженні морфо-функціонального стану ендотелію нами було встановлено збільшення ЦЕК (рис. 1) в сироватці крові хворих на грип А в діапазоні від (1505 ± 161) кл/мл в I групі, (2276 ± 232) — II групі з максимальними значеннями (3120 ± 287) кл/мл в III групі дослідження порівняно з групою контролю (993 ± 102), що достовірно переважає кількість ЦЕК у практично здорових осіб (P < 0,05).

Морфологічне дослідження ЦЕК виявило переважання вираженої стадії апоптозу у хворих на грип А в I та II групах, що, на наш погляд, свідчить про масивне інфікування вірусом грипу А клітин та гостре ушкодження ендотелію судин у хворих, але в III групі процес

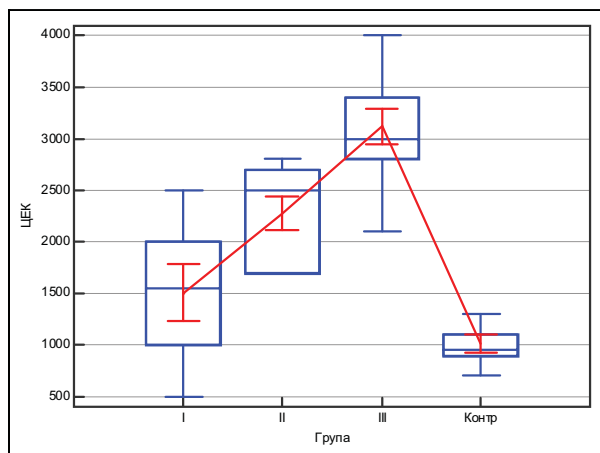


Рис. 1. Динаміка зростання загальної кількості ЦЕКСу хворих на грип залежно від тяжкості захворювання

десквамації ендотелію прогресує, про що свідчить переважання клітин на початковій стадії апоптозу. Виражені морфологічні зміни КЕ співпадали з періодом розпалу захворювання (табл. 1):

Одночасно з визначенням ЦЕК з метою визначення функціонального стану ендотелію у хворих на грип А було проведено дослідження показників церулоплазміну та оксиду азоту у хворих на грип в залежності від тяжкості захворювання (табл. 2):

Дослідження сумарних метаболітів оксиду азоту сироватки крові виявило підвищення рівня концентрації NOx в I (28,7 ± 2,7), II групах (41,2 ± 3,7) та з максимальними показниками у II групі порівняно з контролем (25,97 ± 1,89), що може свідчити про розвиток ендотоксикозу (інтоксикаційного синдрому). За даними літератури, під впливом токсинів вірусу грипу відбувається активація клітин ендотелію та компенсаторне підвищення концентрації оксиду азоту у сироватці крові, якій також має цитопатичні властивості, подібні активним формам кисню АФК. Схильність судин

до вазоспазму та посилення кровотоку у мікроциркуляторному руслі також сприяє ушкодженню ендотеліальних клітин, їх апоптозу та виходу у кров'яне русло [9].

Також виявлено достовірне підвищення концентрації церулоплазміну в групах дослідження I групі — (152,7 ± 12,3) мг/л та II — (151,24 ± 16,4) мг/л порівняно з групою контролю (127,4 ± 9,42) мг/л. Підвищення рівню ЦП в групах дослідження відносно показників контролю, на наш погляд, свідчить про розвиток гострої запальної реакції на перших етапах захворювання, підвищення активності клітин ендотелію та відображає активізацію процесів ліпопероксидації в період розпалення хвороби.

Нами було запропоновано алгоритм раннього прогнозування вірусної пневмонії: при загальних значеннях ЦЕК 1300-1600 клітин в 1 мл крові у вигляді вираженої стадії апоптозу 700-1200 клітин та показниках NO₁ 23.0 — 29.0 мкмоль/л і ЦП 108-144 мг/л передбачають легкий перебіг грипу, при значенні ЦЕК 1700-

2400 клітин в 1 мл крові з переважанням вираженої стадії апоптозу з кількістю 1300-1900 та рівнем NO₁ 30.0-40.0 мкмоль/л та значенні церулоплазміну 145-160 мг/л визначають грип середньої тяжкості, можливо бронхіт, а при значенні ЦЕК 2500-3900 клітин і більше в 1 мл крові з переважанням початкової стадії апоптозу 400-800 клітин та вираженої його стадії 1700-2200

Таблиця 1
Вміст ендотеліальних клітин з розподіленням за стадіями апоптозу в сироватці крові хворих на грип

Групи	Загальна кількість ЦЕК / мл плазми			
	Стадії апоптозу ЦЕК			Загальна кількість ЦЕК
	початкова	виражена	кінцева	
I група	206 ± 45 200-300	958 ± 117 700-1200	115 ± 21 100-200	1505 ± 161 1300-1600
II група	283 ± 18 200-300	1619 ± 154 1300-1900	189 ± 28 100-300	2276 ± 232 1700-2400
III група	606 ± 27 400-800	2013 ± 225 1700-2200	277 ± 21 200-300	3120 ± 287 2500-3900
Контрольні показники	122 ± 28 0-300	633 ± 82 500-1100	92 ± 18 0-200	993 ± 102 700-1300

Таблиця 2

Показники ЦП та NO у хворих на грип залежно від тяжкості перебігу

Показники в групі контролю	Перебіг грипу		
	легкий	середньої тяжкості	тяжкий грип
ЦП мг /л (127,4 ± 9,42)	138,4 ± 3,3*	152,7 ± 2,5*	174,5 ± 3,3*
NO ₂ + NO ₃ мкмоль/ л (25,97 ± 1,89)	28,7 ± 2,7	41,2 ± 3,7*	77,2 ± 0,8*

Примітка: * Достовірність p < 0,05

клітин і рівні NO₁ 40,0-80,0 мкмоль/л та концентрацією ЦП 160-220 мг/л і більше прогнозують ускладнення грипу — вірусну пневмонію, тощо.

Для прогнозування можливих ускладнень захворювання значне діагностичне значення має своєчасне визначення лабораторних предикторів та своєчасна профілактика розвитку ускладнень на ранніх етапах захворювання.

Висновки

1. При дослідженні маркерів дисфункції ендотелію у хворих на грип А визначено підвищення церулоплазміну в сироватці крові в період розпалу, що відображає його роль в організмі як білку гострої фази запалення та антиоксиданту.
2. При значенні ЦЕК 2500-3900 клітин і більше в 1 мл крові з переважанням початкової стадії апоптозу 400-800 клітин та вираженої його стадії 1700-2200 клітин і рівні NO₁ 40,0-80,0 мкмоль/л та концентрацією ЦП 160-220 мг/л і більше прогнозують ускладнення грипу — вірусну пневмонію.
3. Виявлено прямий сильний кореляційний зв'язок між періодом розпалу грипу, та враженістю морфологічних і функціональних порушень ендотелію. Ступінь ураження клітин ендотелію корелює з зростанням кількості ЦЕК у периферичній крові (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,72$, $p < 0,001$).

Література

1. Агабеков А. И., Рзаева Т. Ш. Биологическая роль эндотелия в условиях нормы [Электронный ресурс]. *Бюллетень медицинских Интернет-конференций*. 2017. Т. 7, № 6. URL: www.medconfer.com.
2. Базарова С. А. Изменения состояния эндотелиальной системы у больных бронхиальной астмой при включении в комплексную терапию препарата I-ар-

гинин. *Буковинський медичний вісник*. 2014. Т. 18, № 3 (71). С. 14-17.

3. Грипп (сезонный, птичий, пандемический) и другие ОРВИ / под ред. проф. В. П. Малого, проф. М. А. Андрейчина. М.: ГЭОТАР–Медиа, 2012. 320 с.
4. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии / Л.А. Лапшина, П.Г. Кравчун, А.Ю. Титова, О.В. Глебова. *Український медичний часопис*. 2009. Т. XI/XII, № 6. С. 49-53.
5. Куценко Л. А., Кайдашев И. П. Место церулоплазмина среди белков острой фазы как маркера системного воспаления. *Лабораторная диагностика*. 2011. № 3 (57). С. 59- 68.
6. Мироманова Н. А., Мироманов А. М. Маркер дисфункции эндотелия при осложненных и неосложненных формах гриппа у детей. *Журнал инфектологии*. 2016. Т. 8. № 4. С. 66-71.
7. Осиков М. В. Реактивные изменения клеточно-гуморальной системы организма как типовой патологический процесс и его регуляция реактантами острой фазы: автореф. дис.... д-ра мед. наук. Челябинск, 2008. 44 с.
8. Состояние функции сосудистого эндотелия при инфекционной патологии различной этиологии / Локтионова И. Л., Покровский М. В., Рагулин В. А. и др. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: медицина, фармация*. 2012. № 4 (123). С. 20-31.
9. Спосіб виявлення раннього апоптозу. Патент на винахід № 106268 / Шафран Л. М., Потапов Є. А., Леонова Д. І., Тюрін О. В., Попов А. Ю., Гоцульский В. Я. Зареєстр. в держ. реєстрі патентів України на винаходи 11.08.2014 р. Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 11.08.2014, Бюл. № 15.
10. Balakumar P. Pharmacological Interventions to Prevent Vascular Endothelial Dysfunction: Future Directions. *J. Health Sci*. 2008. Vol. 54, № 1. P. 1–16.
11. Characteristics and outcome of ill critical patients with influenza A infection / Bouneb R., Mellouli M., Bensoltane H. et

- al. *Pan. Afr. Med. J.* 2018. Vol. 26, № 29. P. 174.
12. "Circulating Endothelial Cells in Acute Myocardial Infarction and Angina Pectoris" / J. Hladovec, I. Prerovsky, V. Stanek J. Fabian. *Klinische Wochenschr.* Springer-Verlag, 1978. № 56. P. 1033-1036.
 13. Clinical characteristics of influenza virus-induced lower respiratory infection during the 2015 to 2016 season / Uda K., Shoji K., Koyama-Wakai C. et al. *J. Infect. Chemother.* 2018. Vol. 24, № 6. P. 407-413.
 14. Katusic Z. S., Austin S. A Endotelial nitric oxide: protector of a healthy mind. *Europ. Heart J.* 2014. Vol. 35. P. 888-894.
 7. Osikov M. V. Reactive changes in the cellular-humoral system of the body as a typical pathological process and its regulation with acute phase reactants: thesis Dr. med. sciences. Chelyabinsk, 2008. 44 p. [Rus.]
 8. The state of the function of the vascular endothelium in infectious diseases of various etiologies / Loktionova I. L., Pokrovskiy M. V., Ragulin V. A *Scientific statements of Belgorod State University. Series: medicine, pharmacy.* 2012. № 4 (123). P. 20-31. [Rus.]
 9. A method for detecting of early apoptosis. Patent for invention / Shafran L. M., Potapov E. A, Leonova D. I., Tyurin O. V., Popov A Yu., Gotsulskiy V. Ya Registered in the state Register of Patents of Ukraine for Inventions, 11.08.2014. The date of publication of information on the issuance of a patent and the number of the Bulletin: 11.08.2014, Bul. № 15 [Ukr.]

References

1. Agabekov A I., Rzaeva T. Sh. The biological role of the endothelium in normal conditions [Electronic resource]. *Bulletin of Medical Internet Conferences.* 2017. Vol. 7 (6). URL: www.medconfer.com. [Rus.]
2. Bazarova S.A Changes in the endothelial system in patients with bronchial asthma when l-arginine is included in the complex therapy. *Bukovinsky Medical Bulletin.* 2014. Vol. 18 (3, 71). P. 14-17. [Rus.]
3. Influenza (seasonal, avian, pandemic) and other ARVI / ed. By prof. V.P. Maly, prof. M.A. Andreichin. M.: GEOTAR-Media, 2012. 320 p. [Rus.]
4. The significance of the determination of nitrite-nitrates as markers of endothelial dysfunction in cardiovascular pathology / L. A Lapshina, P. G. Kravchun, A Yu. Titova, O. V. Glebova *Ukrainian Medical Journal.* 2009. Vol. XI/XII (6). P. 49-53. [Rus.]
5. Kutsenko L. A, Kaydashev I. P. Place of ceruloplasmin among acute phase proteins as a marker of systemic inflammation. *Laboratory diagnosis.* 2011. № 3 (57). P. 59- 68. [Rus.]
6. Miromanova N. A., Miromanov A. M. Endothelial dysfunction marker in complicated and uncomplicated forms of influenza in children. *Journal of Infectology.* 2016. Vol. 8 (4). P. 66-71. [Rus.]
10. Balakumar P. Pharmacological Interventions to Prevent Vascular Endothelial Dysfunction: Future Directions. *J. Health Sci.* 2008. Vol. 54, № 1. P. 1-16.
11. Characteristics and outcome of ill critical patients with influenza A infection / Bouneb R., Mellouli M., Bensoltane H. et al. *Pan. Afr. Med. J.* 2018. Vol. 26, № 29. P. 174.
12. "Circulating Endothelial Cells in Acute Myocardial Infarction and Angina Pectoris" / J. Hladovec, I. Prerovsky, V. Stanek J. Fabian. *Klinische Wochenschr.* Springer-Verlag, 1978. № 56. P. 1033-1036.
13. Clinical characteristics of influenza virus-induced lower respiratory infection during the 2015 to 2016 season / Uda K., Shoji K., Koyama-Wakai C. et al. *J. Infect. Chemother.* 2018. Vol. 24, № 6. P. 407-413.
14. Katusic Z. S., Austin S. A Endotelial nitric oxide: protector of a healthy mind. *Europ. Heart J.* 2014. Vol. 35. P. 888-894.

Впервые поступила в редакцию 18.11.2018 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования