

9. Wang, J. Embryonic vs. Adult Myogenesis : challenging the 'Regeneration Recapitulates Development' Paradigm / J. Wang and I. Conboy // Journal of Molecular Cell Biology. – 2009. – № 2. – P. 1–4.

Аслямов Наиль Назипович, кандидат медицинских наук, соискатель ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздравсоцразвития России, Республика Башкортостан, 450075, г. Уфа, ул. Рихарда Зорге, д. 67/1, тел.: (347) 278-87-37, e-mail: nigmatullinr@mail.ru.

УДК 616.61-002.151-06:616.16-018.74-092-07

© А.А. Байгильдина, 2012

А.А. Байгильдина

**ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССА ДЕСКВАМАЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ
И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ДИНАМИКОЙ УРОВНЯ ФАКТОРА РОСТА
ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ В КРОВИ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ
С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ**

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития России, г. Уфа

Рассмотрена взаимосвязь между уровнями циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) и сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) в крови и их патогенетическую роль при геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС). Обследованы 118 больных в возрасте 22–65 лет. Содержание ЦЭК определено по методу J. Hladovec, концентрация СЭФР – набором компании «BioSource» (Бельгия). Уровень ЦЭК выше контроля практически во все периоды при всех формах тяжести ГЛПС, СЭФР – преимущественно ниже контроля. Корреляция между показателями преимущественно слабая положительная. Сделано заключение о значительном повреждении эндотелия, низкой активности процессов его репарации, вовлечении СЭФР в процессы ограничения повреждающего действия хантавируса, об отсутствии явлений тканевой гипоксии.

Ключевые слова: циркулирующие эндотелиоциты, фактор роста эндотелия сосудов, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом.

A.A. Baygildina

**THE INTENSITY OF ENDOTHELIUM DESQUAMATION PROCESS
AND ITS INTERCONNECTION WITH VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR
DYNAMICS IN BLOOD IN HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME**

The research aimed to evaluate interconnection between intensity of endothelium desquamation and vascular endothelial growth factor (VEGF) blood level and their pathogenetic importance at hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). In examination 118 patients at the age of 22–65 years were involved. Circulating desquamated endotheliocytes (CDE) by J. Hladovec's method were quantified, VEGF blood level with the help of BioSource (Belgium) assay kit was determined. CDE blood level during HFRS was mainly significantly high, VEGF level was predominantly significantly low than control. Between CDE and VEGF blood level mainly weak direct correlation was observed. The conclusion was that endothelium at HFRS was considerably destroyed, intensity of its repairing processes was low, tissue hypoxia was not developed, VEGF was involved into the processes of limitation of the hantavirus damaging action.

Key words: circulating desquamated endotheliocytes, vascular endothelial growth factor, hemorrhagic fever with renal syndrome.

Введение. В настоящее время является доказанным, что эндотелиоциты являются главной мишенью для действия возбудителей вирусных геморрагических лихорадок – филовирюсов [13], аренавирусов [10], флаовирусов [11], хантавирусов [12]. По мнению ряда исследователей, такие осложнения вирусных геморрагических лихорадок, как инфекционно-токсический шок и ДВС-

синдром, напрямую связаны с повышением проницаемости эндотелия и ее дезинтеграцией [8]. Однако в доступной литературе отсутствуют сведения об интенсивности процесса десквамации эндотелия при его повреждении при заболеваниях вирусной этиологии и ее взаимосвязи с уровнем сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) в крови, который был открыт как фактор, увеличивающий микрососудистую проницаемость. В последующем было показано, что он вовлекается в процессы ремоделирования сосудов, развитие воспалительных изменений эндотелия, стимулирует образование коллатералей в ответ на гипоксию и др. [7]. Р. Shrivastava-Ranjan и соавторы показали в эксперименте *in vitro* повышение продукции СЭФР в культуре эндотелиоцитов, инфицированных хантавирусом серотипа *Andas* – возбудителем хантавирусного легочного синдрома [14]. Однако ранее в эксперименте *in vivo* нами было показано преимущественное снижение экспрессии СЭФР при геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС), вызываемом хантавирусом серотипа *Puumala* [1].

Цель: изучить динамику содержания циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в периферической крови и ее взаимосвязь с уровнем СЭФР в крови в зависимости от периода и тяжести ГЛПС для оценки их роли в патогенезе заболевания.

Материалы и методы. Работа одобрена экспертным советом по биомедицинской этике по клиническим дисциплинам ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России. В группу динамического исследования количества ЦЭК и концентрации СЭФР в крови вошли 118 больных (96 мужчин и 22 женщины) с серологически подтвержденным диагнозом ГЛПС в возрасте 22–55 лет (средний возраст $37,4 \pm 4,1$ лет). От каждого больного было получено информированное согласие. Критериями исключения из исследования явилось наличие в анамнезе гипертонической болезни, атеросклероза, болезней сердца и сосудов, сахарного диабета, злокачественных заболеваний, заболеваний печени и почек. При определении степени тяжести ГЛПС использовали классификацию Б.З. Сиротина [6]. Среднетяжелая форма выявлена у 61 больного (51,7 %), тяжелая без осложнений – у 32 больных (27,1 %), тяжелая с осложненным течением (инфекционно-токсический шок I–II степени, острая почечная недостаточность, ДВС-синдром, острая дыхательная недостаточность, острый эрозивный гастрит, гематома почки) – у 25 больных (21,2 %). Группу контроля составили 23 практически здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту. Кровь брали утром натощак в стандартных условиях. При заборе крови для определения содержания ЦЭК первые 2 мл крови, которые могут содержать эндотелиоциты, слущивающиеся в результате механического повреждения эндотелия иглой при венепункции, в исследовании не использовались. Количество ЦЭК определяли методом J. Hladovec [9]. Для определения содержания СЭФР образцы сыворотки крови хранили при -20°C до момента исследования. Концентрацию СЭФР в сыворотке крови определяли иммуноферментным набором компании «BioSource» (Бельгия). Результаты обрабатывали с помощью стандартного статистического пакета программ Statistica 7.0 for Windows с использованием методов непараметрической статистики: определяли медиану, интерквартильный интервал (25-й и 75-й процентиля, максимальное и минимальное значения; достоверность межгрупповых различий средних величин оценивали по критерию U Манна-Уитни с поправкой Бонферрони; взаимосвязь двух признаков оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы p принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Во всех исследованных группах пациентов обнаруживается статистически значимое повышение содержания ЦЭК в крови по сравнению с контролем, за исключением периода восстановленного диуреза при осложненной форме, динамика содержания этих клеток в крови мало зависит от периода и степени тяжести заболевания (рис. 1). В лихорадочном периоде при среднетяжелой форме их количество возрастает в 1,5 раза, тяжелой без осложнений – в 1,8 раз, тяжелой осложненной форме – в 2,8 раз; в олигурическом – в 2,4; 2,9 и 3,6 раза, соответственно; в полиурическом – в 2,9; 3,5 и 5 раз, соответственно, восстановленного диуреза – в 3,4 и 2,6 выше и в 1,2 раза ниже контроля, соответственно. Таким образом, чем тяжелее протекает заболевание, тем выше степень десквамации внутренней выстилки сосудов. Статистически значимо уровень данных клеток в крови нормализуется только к периоду восстановленного диуреза при осложненной форме ГЛПС.

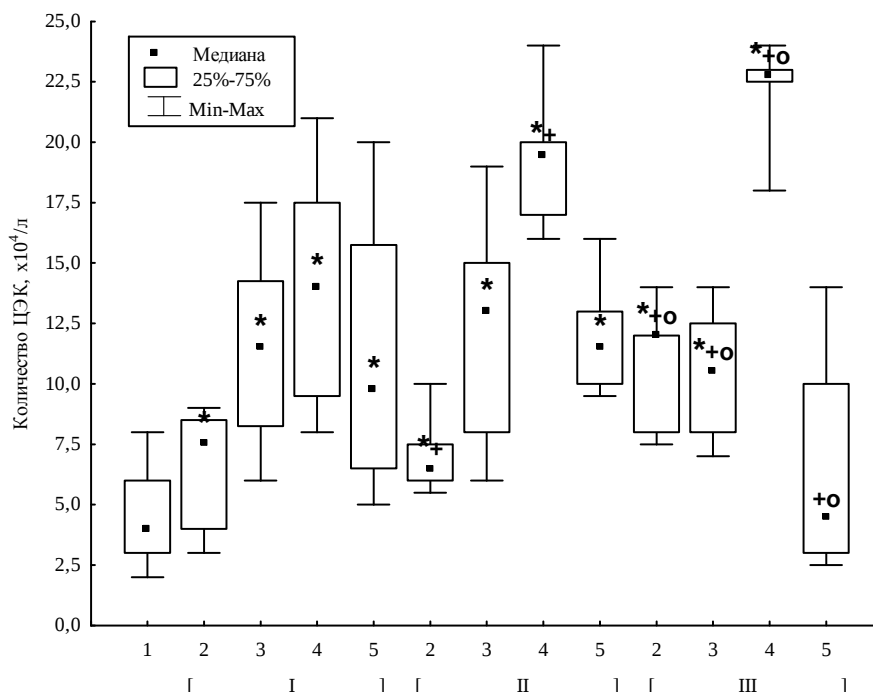


Рис. 1. Количество ЦЭК в крови больных ГЛПС различной степени тяжести на фоне базисной лекарственной терапии.

Здесь и на рис. 2:

1 – контроль, 2 – период лихорадки, 3 – период олигурии,

4 – период полиурии, 5 – период восстановленного диуреза.

I – среднетяжелая форма, II – тяжелая форма без осложнений, III – тяжелая форма с осложнениями.

$P < 0,05$ по сравнению: * – с контролем, + – со среднетяжелой формой,

o – с тяжелой формой без осложнений

Динамика СЭФР носит несколько иной характер: его концентрация в сыворотке крови преимущественно ниже контрольных значений и в равной степени зависит как от периода заболевания, так и от степени его тяжести (рис. 2). Так, в лихорадочный период при среднетяжелой форме имеет место выраженное (в 7,8 раз) снижение уровня данного цитокина с последующим возрастанием вплоть до периода полиурии, когда имеет место его полуторакратное статистически значимое увеличение. К периоду восстановленного диуреза содержание данного ростового фактора в крови вновь статистически значимо (в 2,5 раза) уменьшается. В период лихорадки при тяжелой форме болезни без осложнений также наблюдается статистически значимое снижение концентрации СЭФР, однако, в отличие от среднетяжелой формы, к периоду олигоанурии уровень цитокина практически не меняется, что статистически значимо ниже не только контроля, но и значения для аналогичного периода среднетяжелой формы. Значительное изменение содержания данного фактора наблюдается и в полиурический период неосложненной формы: повышение его уровня не является статистически значимым, однако обращает на себя внимание резкий подъем концентрации СЭФР при переходе из олигоанурического к полиурическому периоду – в 123,3 раза. В период восстановленного диуреза вновь имеет место статистически значимое уменьшение содержания данного фактора роста в периферической крови больных ГЛПС. При присоединении осложнений динамика колебаний уровня изучаемого цитокина не столь выражена: его концентрация статистически значимо, но не столь выражено снижается в периоды лихорадки и олигоанурии и статистически значимо нормализуется к периодам полиурии и восстановления диуреза.

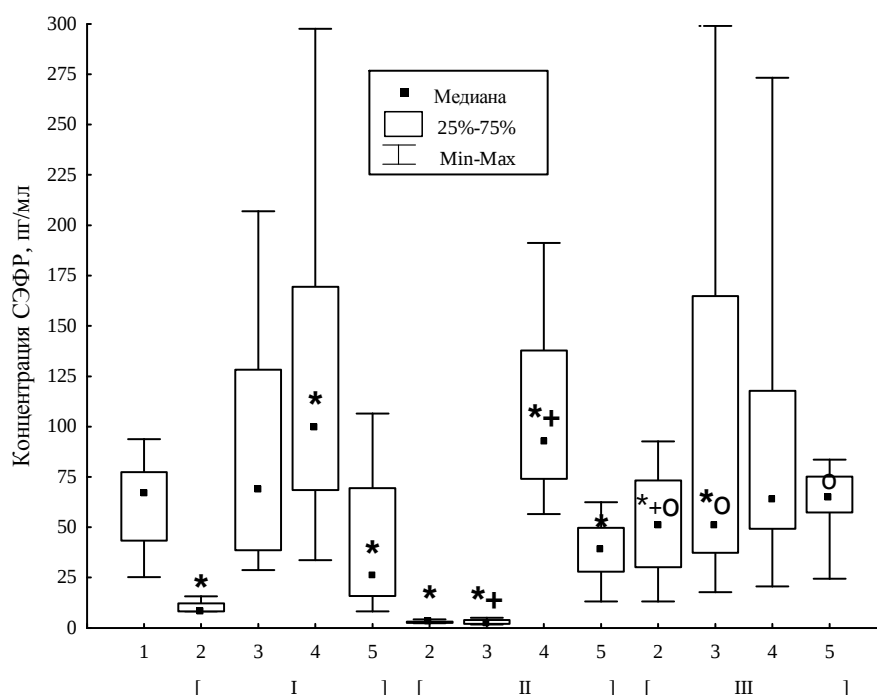


Рис. 2. Концентрация СЭФР в сыворотке крови больных ГЛПС различной степени тяжести на фоне базисной лекарственной терапии

Анализ корреляционной зависимости по Спирмену между уровнями ЦЭК и СЭФР в крови больных ГЛПС показал преимущественно положительную взаимосвязь разной силы, причем ни в одной из исследуемых групп взаимосвязь не является статистически значимой (табл.). У больных среднетяжелой формой имеет место преимущественно положительная связь от средней до слабой степени выраженности, и только в период восстановленного диуреза наблюдается отрицательная корреляционная связь средней силы. При тяжелой неосложненной форме, напротив, слабая отрицательная взаимосвязь определяется только в начальный период болезни, в последующие периоды она сменяется также слабо выраженной корреляцией, но уже с противоположным знаком. При наличии осложнений взаимосвязь между изучаемыми показателями положительная средней степени выраженности на протяжении всего заболевания, за исключением периода восстановленного диуреза, в течение которого наблюдается слабая положительная корреляция.

Таблица

Корреляционная зависимость между уровнем ЦЭК и концентрацией СЭФР в крови больных ГЛПС различной степени тяжести по Спирмену, R

Период заболевания	Форма заболевания		
	Среднетяжелая	Тяжелая без осложнений	Тяжелая с осложнениями
Лихорадочный	+0,44, p = 0,32	-0,22, p = 0,72	+0,40, p = 0,60
Олигоурический	+0,25, p = 0,34	+0,14, p = 0,63	+0,54, p = 0,11
Полиурический	+0,23, p = 0,44	+0,34, p = 0,17	+0,44, p = 0,10
Восстановленного диуреза	-0,51, p = 0,62	+0,24, p = 0,39	+0,12, p = 0,68

Усиленное отслоение эндотелиоцитов от базальной мембраны во всех исследованных группах больных ГЛПС является свидетельством их значительного повреждения как непосредственно хантавирусом, так и продуктами метаболизма, образующимися в этих клетках с целью обезвреживания чужеродного агента (активные формы кислорода, NO, пероксинитрит и др.) [5]. Статистически значимая нормализация уровня ЦЭК в период восстановленного диуреза осложненной формы болезни является результатом того, что повреждение и слущивание основной части эндотелиального покрова произошло уже в более ранних периодах. Результатом усиленного отслоения сосудистой интимы, наиболее выраженного при тяжелой осложненной форме, является обширное обнажение субэндотелия и, следовательно, экспонирование его тромбогенных субстанций, в частности, коллагена IV типа,

в просвет сосуда, что ведет к ослаблению ее антикоагулянтных и усилению прокоагулянтных свойств, а именно – к включению каскадного механизма свертывания крови по внутреннему пути, что является одной из предпосылок развития ДВС-синдрома с последующим ухудшением тканевой перфузии, нарастанием ишемии внутренних органов и развитием полиорганной недостаточности. На фоне усиленной десквамации эндотелиоцитов вполне был бы ожидаем такой метаболический ответ организма, как повышенная экспрессия стимуляторов регенерации внутренней выстилки сосудов, в частности СЭФР. Однако преимущественно слабая положительная и статистически незначимая взаимосвязь между этими показателями свидетельствуют о том, что этот ростовой фактор в процесс восстановления интимы сосудов в острой фазе ГЛПС, возможно, не вовлекается.

Однако роль СЭФР не ограничивается только поддержкой ремоделирования сосудов: будучи специфичным для эндотелиальных клеток, он обладает также провоспалительными свойствами и способностью повышать проницаемость сосудов. При всех формах тяжести ГЛПС в период лихорадки имеет место снижение уровня СЭФР в крови, и наиболее значимым оно является при тяжелой форме болезни без осложнений. Подобная реакция эндотелиоцитов в условиях целостного организма, отличная от таковой при инфицировании их в культуре клеток, при которой наблюдается усиление экспрессии СЭФР [14], может быть объяснена с позиции адаптивного торможения макроорганизмом экспрессии клетками-продуцентами фактора сосудистой проницаемости, поскольку проницаемость стенки сосудов при ГЛПС уже повышена вследствие развития таких процессов, как воспаление эндотелия и гипотензия по периферическому типу из-за гиперпродукции оксида азота (II) [2, 4]. Подобный метаболический ответ препятствует усилению плазморреи с развитием отека, сдавления тканей и, как следствие, – развитию гипоксии. Достаточно ровная динамика изменений концентрации изучаемого цитокина при тяжелой форме с осложнениями, возможно, обусловлена менее активным иммунным ответом у данной группы больных вследствие значительной вирусной нагрузки [3]. Уровень СЭФР на всем протяжении болезни статистически значимо не превышает значения контроля, что позволяет сделать заключение об отсутствии пускового механизма секреции этого фактора – гипоксии, а, следовательно, о сохранении состоятельности микроциркуляторного русла органов и тканей.

Выводы.

1. При ГЛПС имеет место усиленная десквамация эндотелиоцитов, что свидетельствует об их повреждении хантавирусами продуктами измененного под их влиянием метаболизма.
2. При ГЛПС концентрация СЭФР преимущественно не превышает контрольные значения, что говорит о сохранении структурно-функциональной состоятельности системы микроциркуляции и отсутствии выраженной гипоксии в тканях.
3. Статистически незначимая положительная корреляция между количеством ЦЭК и уровнем СЭФР в крови больных ГЛПС указывает, возможно, на запаздывание процессов восстановления эндотелия.

Список литературы

1. Байгильдина, А. А. Значение сосудистого эндотелиального фактора роста в патогенезе геморрагической лихорадки с почечным синдромом / А. А. Байгильдина // Пермский медицинский журнал. – 2009. – Т. 26, № 5. – С. 83–88.
2. Байгильдина, А. А. Патогенетическое значение некоторых цитокинов и белка клеточной адгезии VCAM-1 в развитии воспалительных изменений эндотелия сосудов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / А. А. Байгильдина, А. Т. Галиева, Ф. Х. Камилов // Морфологические ведомости. – 2008. – № 3–4. – С. 155–158.
3. Валишин, Д. А. Гормонально-иммунологический статус у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Д. А. Валишин. – М., 1999. – 31 с.
4. Галиева, А. Т. Патогенетическое значение оксида азота (II) при геморрагической лихорадке с почечным синдромом : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. Т. Галиева. – Уфа, 2004. – 26 с.
5. Камилов, Ф. Х. Патохимические механизмы развития ГЛПС // Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом : актуальные проблемы эпидемиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики / Ф. Х. Камилов, Г. Х. Мирсаева, А. А. Байгильдина; под ред. Р. Ш. Магазова. – Уфа : Гилем, 2006. – С. 56–82.
6. Сиротин, Б. З. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом Б.З. Сиротин. – Хабаровск : Хабаровская краевая типография, 1994. – 300 с.
7. Ferrara, N. The biology of vascular endothelial growth factor / N. Ferrara, T. Davis-Smyth // Endocrine Rev. – 1997. – Vol. 18. – P. 4–25.

8. Geisbert, T. W. Ebola virus : new insights into disease aetiopathology and possible therapeutic interventions / T. W. Geisbert, L. E. Hensley // Expert Rev. Mol. Med. – 2004. – Vol. 6. – P. 1–24.
9. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions / J. Hladovec // Physiol. Bohemoslov. – 1978. – Vol. 27, № 2. – P. 140–144.
10. Kunz, S. The role of the vascular endothelium in arenavirus haemorrhagic fevers / S. Kunz // Thromb. Haemost. – 2009. – Vol. 102. – P. 1024–1029.
11. Monath, T. P. Pathogenesis and pathophysiology of yellow fever / T. P. Monath, A. D. Barrett // Adv. Virus Res. – 2003. – Vol. 60. – P. 343–395.
12. Pensiero, M. N. Hantaan virus infection of human endothelial cells / M. N. Pensiero, J. B. Sharefkin, C. W. Dieffenbach et al. // J. Virol. – 1992. – Vol. 66. – P. 5929–5936.
13. Schnittler, H. J. Molecular pathogenesis of filovirus infections: role of macrophages and endothelial cells / H. J. Schnittler, H. Feldmann // Curr. Top Microbiol. Immunol. – 1999. – Vol. 235. – P. 175–204.
14. Shrivastava-Ranjan, P. Andes virus disrupts the endothelial cell barrier by induction of vascular endothelial growth factor and downregulation of VE-cadherin / P. Shrivastava-Ranjan, P. E. Rollin, C. F. Spiropoulou // J. Virol. – 2010 – Vol. 84, № 21. – P. 11227–11234.

Байгильдина Асия Ахметовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической и биоорганической химии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, 450000, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3. тел.: (347) 272-41-73, e-mail: baigildinaasia@mail.ru.

УДК 616.341:611-018.25:591.81

© А.А. Бахтин, 2012

А.А. Бахтин

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ BCL-XL В ТОНКОЙ КИШКЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

Освещены иммуногистохимические особенности экспрессии белков Bcl-xl при хроническом воздействии сероводородсодержащим газом в предельно-допустимых дозах. Показано, что на фоне воздействия природным газом в стенке тонкой кишки происходит снижение экспрессии противоапоптотического маркера Bcl-xl, что расценивается как усиление процессов апоптоза.

Ключевые слова: тонкая кишка, Bcl-xl, сероводородсодержащий газ, неблагоприятные факторы окружающей среды.

A.A. Bahtin

THE PECULIARITIES OF IMMUNOHISTOCHEMICAL DATA BCL-XL IN THE SMALL INTESTINE UNDER THE INFLUENCE OF UNFAVOURABLE ECOLOGICAL FACTORS

The immunohistochemical features of the expression Bcl-xl of chronic influence of hydrogen sulphide gas in maximum-permissible concentration were studied. The experimental work showed that under the influence by natural gas in the small intestine wall there was an expression decrease of anti-apoptosis of marker Bcl-xl, it strengthened the processes of apoptosis.

Key words: small intestine, apoptosis, hydrogen sulphide gas, unfavorable environmental factors, Bcl-xl.

Введение. Клеточной гибели принадлежит важнейшая роль как в физиологических, так и в патологических условиях, поскольку подавление или неадекватное ее усиление ведут к патологическим изменениям органов и тканей [1]. В запуске и регуляции клеточной гибели существует несколько механизмов и множество биологически активных веществ, которые контролируют эти механизмы и решают дальнейшую судьбу клетки.