

В.В. Ботвиньева¹, О.Б. Гордеева¹, О.И. Симонова¹, Л.С. Намазова-Баранова^{1, 2, 3}, Ю.В. Горина¹, Е.Л. Королькова¹, М.А. Солошенко¹, А.К. Геворкян¹

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

Состояние системы первичного гемостаза при муковисцидозе у детей

Контактная информация:

Гордеева Ольга Борисовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии Научного центра здоровья детей

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, **тел.:** (495) 967-14-39

Статья поступила: 28.10.2013 г., **принята к печати:** 14.01.2014 г.

В статье приведены результаты исследования тромбоцитарного звена гемостаза у детей, больных муковисцидозом. В условиях нарушенного мукоцилиарного клиренса происходит инфицирование неподвижной и вязкой слизи различными патогенными и условно-патогенными микроорганизмами; воспаление приобретает хронический характер, на фоне которого дисфункция эндотелия и нарушение агрегации тромбоцитов могут провоцировать развитие осложнений в сосудистом русле. Ранняя диагностика патологических изменений в первичном звене гемостаза является важным аспектом для терапии и прогноза заболевания.

Ключевые слова: агрегационная функция тромбоцитов, муковисцидоз, воспаление, гемостаз, дети.

(Педиатрическая фармакология. 2014; 11 (1): 66–68)

По данным генетических исследований, распространенность муковисцидоза в России составляет в среднем 1:10 000 новорожденных [1]. Муковисцидоз (МВ) — моногенное заболевание, обусловленное мутацией гена *МВТР* (муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости), характеризуется поражением всех экзокринных желез жизненно важных органов. Патогенез поражения отдельных органов и систем при МВ связан с выделением слизиобразующими железами секрета повышенной вязкости, а нарушение мукоцилиарного клиренса способствует росту патогенной флоры и развитию рецидивирующих хронических инфекций респираторного тракта. Такие бактерии, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, обуславливают наиболее тяжелое и прогностически неблагоприятное течение хронической бронхолегочной инфекции у больных муковисцидозом. В процесс воспаления всегда вовлекается микроциркуляторное русло [2, 3]. Повышенная проницаемость сосудов в очаге воспаления, быстрое нарастание числа иммунокомпетентных клеток, продукция ими различных провоспалительных цитокинов — вот перечень

основных феноменов, обсуждаемых учеными при изучении воспалительных процессов. Ряд патологических изменений при воспалении затрагивает и эндотелий легочных сосудов, который в свою очередь инактивирует серотонин, простагландины, брадикинин и синтезирует ряд факторов свертывающей и противосвертывающей систем. Дисфункция эндотелия в последующем может приводить к развитию сосудистых осложнений. Известно, что у больных муковисцидозом нередко развиваются легочные кровотечения и рецидивирующее кровохаркание, ухудшающие прогноз болезни [4–8]. Изучение тромбоцитарного звена гемостаза, с нашей точки зрения, может способствовать ранней диагностике нарушений в микроциркуляторном русле и их своевременной коррекции.

Цель исследования: проанализировать изменения тромбоцитарного звена гемостаза при муковисцидозе у детей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 85 детей, из них 45 с муковисцидозом, в возрасте от 8 мес до 17 лет ($7,57 \pm 4,66$). Оценка

V.V. Botvinyeva¹, O.B. Gordeyeva¹, O.I. Simonova¹, L.S. Namazova-Baranova^{1, 2, 3}, Y.V. Gorina¹, E.L. Korolkova¹, M.A. Soloshenko¹, A.K. Gevorkyan¹

¹ Scientific Center of Childrens Health, Moscow, Russian Federation

² First Sechenov Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

³ Pirogov Russian National Medical Research University, Moscow

Primary Hemostatic System Condition in Mucoviscidosis in Children

The article presents results of a study of platelet hemostasis in children with mucoviscidosis. Motionless and viscous mucus becomes infected with various pathogenic and opportunistic microbes in the setting of disturbed mucociliary clearance; when inflammation becomes chronic, endothelial dysfunction and platelet aggregation disorder may provoke development of bloodstream complications. Early diagnostics of pathologic changes in primary hemostasis is important for therapy and disease prognosis.

Key words: platelet aggregate function, mucoviscidosis, inflammation, hemostasis, children.

(Pediatricheskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology. 2014; 11 (1): 66–68)

по шкале Швахмана–Брасфильда в среднем составила $52,3 \pm 1,1$ балла. Диагноз муковисцидоза был верифицирован на основании положительных потовых тестов и подтвержден результатом генетического исследования. Все пациенты обследованы в период обострения бронхолегочного процесса (усиление кашля, обилие разнокалиберных влажных хрипов, большое количество вязкой гнойной мокроты, отрицательная динамика рентгенологической картины), по поводу чего они получали базисную терапию: антибиотики (цефалоспорины III и IV поколений, карбопенемы) в максимальных дозировках; препараты группы N-ацетилцистеина и амброксола гидрохлорида, муколитик с противовоспалительными свойствами дорназа альфа. Группу сравнения составили 40 практически здоровых детей того же возраста, проходивших диспансеризацию в консультативно-диагностическом центре НЦЗД.

Всем больным проводили исследование крови, стабилизированной этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА), на гематологическом анализаторе Sysmex 200i (Япония). Одновременно со стандартными показателями общего анализа крови (гемоглобин, эритроциты, тромбоциты, лейкоциты) определяли тромбоцитарные индексы: PDW (platelet distribution width) — относительная ширина распределения тромбоцитов по объему; индекс отражает гетерогенность тромбоцитов по размерам (степень анизоцитоза); MPV (mean platelet volume) — среднее значение объема тромбоцитов; P-LCR (platelet large cell ratio) — отношение объема больших тромбоцитов к общему объему тромбоцитов; PCT (platelet crit) — тромбокрит; параметр, который отражает долю объема цельной крови, занимаемую тромбоцитами. Изучение агрегации тромбоцитов в цельной крови у детей проводили на агрегометре Multiplate — Verum Diagnostica (VD, Германия). В качестве индукторов агрегации использовали раствор аденозиндифосфорной кислоты (АДФ), растворимые активаторы рецепторов тромбина (thrombin receptor activator for peptide 6, TRAP-тест) и арахидоновую кислоту (ASPI-тест). В сыворотке крови на биохимическом анализаторе UniCel DxC 600 (BD, США) турбодиметрическим методом определяли уровень С-реактивного белка (СРБ). Иммунохемилюминесцентным методом исследовали уровень основного провоспалительного цитокина — интерлейкина (*Interleukin*, IL) 6 на анализаторе Accesses 2 (BD, США). При статистической обработке данных использованы непараметрические методы вариационной статистики, тест Манна–Уитни для сравнения групп (программа SPSS 20,0). Анализ зависимостей проводили при помощи коэффициента корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке показателей первичного звена гемостаза у 2/3 больных с МВ установлены статистически значимые, по сравнению с практически здоровыми детьми, нарушения агрегационной функции тромбоцитов. При исследовании агрегации с АДФ и арахидоновой кислотой отмечена тенденция к гипоагрегации тромбоцитов у 40% пациентов. При анализе состояния рецепторов тромбина на поверхности тромбоцитов выявлено увеличение скорости и степени тромбининдуцированной агрегации у 22% детей, больных МВ. Сочетанные нарушения в агрегационной функции тромбоцитов были выявлены у 1/3 больных. Наиболее выраженные изменения функции тромбоцитов наблюдались в виде тромбининдуцированной гиперагрегации и АДФ-гипоагрегации у больных МВ в фазу обострения бронхолегочного процесса, что сопровождалось повышением уровня IL 6 (рис. 1) в сыво-

Рис. 1. Значения сывороточного IL 6

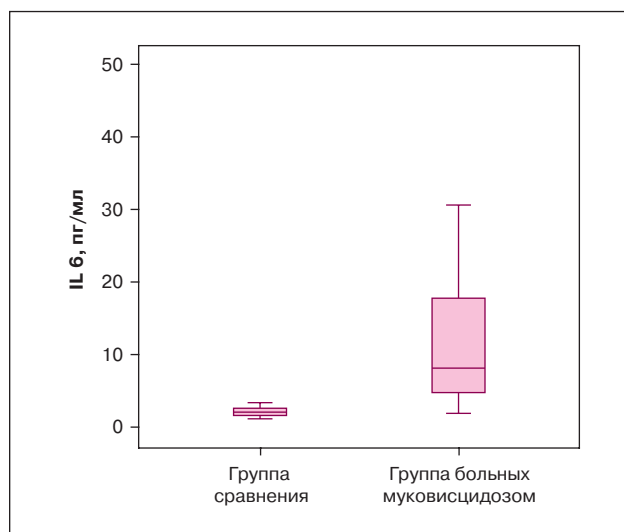
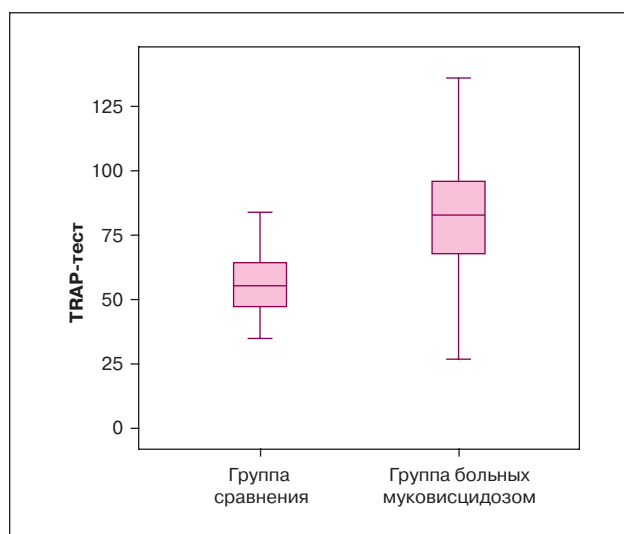


Рис. 2. Агрегация тромбоцитов с активатором рецепторов тромбина (TRAP-тест)



ротке крови. Гиперагрегация с активатором рецепторов тромбина (рис. 2) у детей с МВ может свидетельствовать о нарушениях в первичном гемостазе с тенденцией к тромбообразованию. Гипоагрегация с АДФ у детей с МВ отражает замедленную реакцию высвобождения АДФ в тромбоцитах, что сигнализирует о снижении агрегационной способности тромбоцитов и риске кровотечения (рис. 3). Была установлена прямая корреляция между тестами TRAP и IL 6 ($r = 0,76$; $p < 0,05$); умеренная отрицательная зависимость — между агрегацией тромбоцитов с АДФ и IL 6 ($r = -0,57$; $p < 0,05$).

Наряду с показателями агрегационной активности тромбоцитов были проанализированы показатели числа лейкоцитов, тромбоцитов, тромбоцитарных индексов, а в сыворотке крови — уровни маркеров воспаления СРБ, IL 6. У больных МВ выявлены статистически значимые отличия в двух тестах агрегации тромбоцитов: TRAP-тест и АДФ; а также в уровнях IL 6 и СРБ ($p < 0,05$) (табл. 1). Показатели тромбоцитарных индексов, числа тромбоцитов и теста агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой значимо не отличались от показателей здоровых детей ($p > 0,05$).

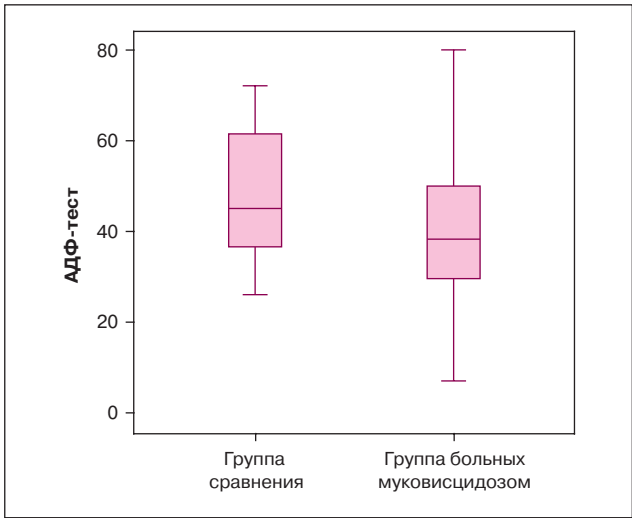
Таблица 1. Медианы показателей крови (95% доверительный интервал)

Лабораторные показатели крови	Дети с муковисцидозом, n = 45	Практически здоровые дети, n = 40	p
TRAP-тест (U)	83 (8,5–132,85)	55 (35–82,7)	0,001
ASPI-тест (U)	42,5 (10–102,35)	51,5 (31–80,75)	0,235
АДФ-тест (U)	38,5 (7,25–80)	45 (26–71,3)	0,042
IL 6, пг/мл	8,3 (2,07–45,18)	2,2 (1,38–4,59)	0,001
С-реактивный белок, мг/л	0,1 (0,1–27,36)	0,1 (0,1–1,28)	0,011
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	7,91 (3,41–14,85)	8,2 (4–11,7)	0,973
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	342 (139–549)	322 (204–527,4)	0,189
MPV	9,3 (8,3–10,7)	9,5 (8,2–11,2)	0,469
P-LCR, %	20,7 (13,5–30,9)	21,8 (12,3–35,3)	0,715
PCT, %	0,29 (0,21–0,44)	0,3 (0,22–0,48)	0,678

Таблица 2. Показатели клинической значимости тестов (ROC-анализ)

Тестовые переменные	Площадь под кривой (AUC)	Стандартное отклонение	Асимптотический 95% доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
С-реактивный белок	0,726	0,109	0,512	0,940
IL 6	0,908	0,061	0,789	1,000
TRAP-тест	0,812	0,107	0,602	1,000
ASPI-тест	0,522	0,137	0,253	0,791
АДФ-тест	0,330	0,094	0,146	0,514

Рис. 3. Агрегация тромбоцитов с аденозиндифосфорной кислотой (АДФ-тест)



В дальнейшем был проведен анализ ROC-кривых (англ. receiver operating characteristic — операционная характеристика приемника). Количественная интерпретация ROC-анализа в виде показателя AUC (англ. area under ROC-curve — площадь под ROC-кривой) характеризует клиническую ценность тестов (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменения в агрегационной функции тромбоцитов на фоне обострения муковисцидоза могут выражаться, с одной стороны, активацией тромбоцитов с последующей гиперагрегацией и тромбообразованием, а с другой — нарушением метаболизма арахидоновой кислоты и АДФ, что способно приводить к развитию геморрагических осложнений. Нарушения в первичном звене гемостаза у детей, больных МВ, требуют дальнейшего исследования с другими индукторами агрегации для предотвращения развития геморрагических и тромботических осложнений и адекватной терапевтической коррекции нарушений в первичном звене гемостаза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Капранов Н.И. Современные аспекты муковисцидоза. Материалы X Национального конгресса «Муковисцидоз у детей и взрослых». 2011. С. 12–15.

2. Vernooij J.H., Kucukaycan M., Jacobs J.A. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: soluble tumor necrosis factor receptors are increased in sputum. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166: 1218–1224.

3. Белоцкий С.М., Авталион Р.Г. Воспаление: мобилизация клеток и клинические эффекты. М., 2008. 240 с.

4. Hodson M., Geddes D. Cystic fibrosis. *Chapman, London*. 1995. P. 439.

5. Старовойтова Е.В., Ботвиньева В.В., Фёдоров А.М., Таточенко В.К., Бакрадзе М.Д., Дарманян А.С. Сравнительная характеристика уровня лейкоцитоза, С-реактивного белка, прокальцитонина при дифференциальной диагностике острых тонзиллитов у детей. *Педиатрическая фармакология*. 2007; 4 (33): 45–49.

6., O'Sullivan B.P., Linden M.D., Frelinger A.L., Barnard M.R., Spencer-Manzon M. Platelet activation in cystic fibrosis. *Blood*. 2005; 105 (12): 4635–41.

7. George P.M., Banya W., Pareek N., Bilton D., Cullinan P.M., Hodson M.E. Improved survival at low lung function in cystic fibrosis: cohort study from 1990 to 2007. *BMJ*. 2011; 342: d1008.

8. Симонова О.И., Соловьева Ю.В., Васильева Е.М. Муколитик с противовоспалительными свойствами для детей с муковисцидозом: дорназа альфа. *Педиатрическая фармакология*. 2012; 9 (6): 85–90.