

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Байгильдина А.А., 2016
УДК 616.61.151-092:577.17

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЭНДОТЕЛИНА-1
ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ**

А.А. БАЙГИЛЬДИНА

ГБОУ ВПО БашГМУ Минздрава России, г. Уфа

**PATHOGENETIC ROLE OF ENDOTHELIN-1 IN HEMORRHAGIC FEVER
WITH RENAL SYNDROME**

A.A. BAIGILDINA

Bashkir State Medical University, Ufa

Выявлено статистически значимое снижение концентрации эндотелина-1 в динамике ГЛПС, зависящее только от формы ее тяжести. Роль эндотелина-1 в поддержании системного артериального давления больных ГЛПС незначительна. Полиморфный локус гена эндотелина-1 не ассоциирован с тяжестью течения заболевания.

Ключевые слова: эндотелин-1, полиморфизм локуса rs5370 гена эндотелина-1, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом.

A statistically significant decrease in the concentration of endothelin-1 in the dynamics of hemorrhagic fever with renal syndrome, depending only on the shape of its severity, is revealed. Role of endothelin-1 in the maintenance of systemic blood pressure of patients with hemorrhagic fever with renal syndrome is negligible. A polymorphic gene locus of endothelin-1 is not associated with the severity of the disease.

Keywords: endothelin-1, locus rs 5370 polymorphism of endothelin-1 gene, hemorrhagic fever with renal syndrome.

Актуальность

В настоящее время является доказанным, что главной мишенью для действия возбудителей вирусных геморрагических лихорадок, в том числе и геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), вызываемой хантавирусом серотипа *Puumala*, является эндотелий [4, 6]. Вирус-ассоциированные активация и пов-

реждение интимы сосудов неизбежно должны сопровождаться изменением спектра выделяемых ею вазоактивных субстанций, в том числе и самого мощного среди них – эндотелина-1 (ЭТ-1) [5]. В доступной литературе обнаружены сведения о повышении концентрации ЭТ-1 в лихорадочный и олигурический периоды только при *Hantaan*-ассоциированной ГЛПС без уточнения

формы тяжести заболевания [7]. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение содержания ЭТ-1 в крови больных ГЛПС различной степени тяжести в динамике болезни и изучение ассоциации полиморфного локуса гена ЭТ-1 с тяжестью ее течения для оценки роли этого пептида в патогенезе заболевания.

Материалы и методы

В динамическое исследование концентрации ЭТ-1 в крови вовлечены 72 пациента с серологически подтвержденным диагнозом ГЛПС (64 мужчины и 8 женщин) в возрасте 36,7 [29,2; 51,9] лет, в том числе со среднетяжелой формой – 28, тяжелой без осложнений – 24, тяжелой с осложнениями (ДВС-синдром, инфекционно-токсический шок, острая почечная недостаточность и др.) – 20 больных. Группу контроля составили 23 практически здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту. В молекулярно-генетическом исследовании использованы образцы ДНК 319 больных с серологически подтвержденным диагнозом ГЛПС различной степени тяжести в возрасте 41,2 [26,7; 51,3] лет, в том числе со среднетяжелой формой – 175, тяжелой без осложнений – 95, тяжелой с осложнениями – 49 пациентов, и 171 образец ДНК серонегативного донора. Концентрацию ЭТ-1 в плазме крови определяли методом ИФА с использованием тест-системы «Endothelin ELISA» компании «Biomedica Group» (Австрия). ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование полиморфного локуса *rs5370* гена ЭТ-1 проводили методами ПЦР синтеза ДНК и полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. Результаты обработали с использованием стандартных статистических пакетов программ Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004), SPSS 13.0 for Windows, «RxC» на основе алгоритма точного двустороннего критерия Фишера Р (F_2). Для оценки количественных показателей определяли медиану и интерквартильный интервал (25-й и 75-й процентиля). Статистическую значимость межгрупповых

различий средних величин оценивали по критерию U Манна-Уитни с поправкой False Discovery Rate (FDR) для множественных сравнений. Взаимосвязь двух количественных признаков оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Влияние периода и формы тяжести на изменение концентрации ЭТ-1 определяли с помощью многомерного дисперсионного анализа MANOVA. Правильность распределения частот генотипов и аллелей определяли соответствием равновесию Харди-Вайнберга. При парном сравнении частот генотипов и аллелей в группах больных и в контроле использовали критерий хи-квадрат (χ^2) для таблиц сопряженности 2×2 с поправкой Йетса на непрерывность. Проверку статистических гипотез проводили при критическом уровне значимости $p=0,05$.

Результаты и их обсуждение

Puumala-ассоциированная ГЛПС сопровождается статистически значимо низким плазменным уровнем ЭТ-1 на всем протяжении болезни с максимумом в период лихорадки, и чем тяжелее протекает заболевание, тем более выражено снижение его продукции (рис. 1).

По данным двухфакторного дисперсионного анализа, на уровень ЭТ-1 в крови больных ГЛПС статистически значимо влияет только форма тяжести болезни (табл. 1).

В низких концентрациях ЭТ-1 проявляет себя как мощный вазодилататор [3], поэтому на следующем этапе исследовали его роль в поддержании системного тонуса сосудов в динамике ГЛПС различной степени тяжести на основе определения корреляционной связи уровня ЭТ-1 с средним артериальным давлением (срАД) больных, значение которого рассчитывали по формуле Хикема [2] (табл. 2).

Корреляционная связь между содержанием ЭТ-1 в крови и уровнем срАД больных ГЛПС различной степени тяжести в динамике болезни преимущественно положительная слабой и средней силы, что свидетельствует о незначительной патогенетической роли этого пептида в поддержании системного тонуса сосудов (табл. 3).

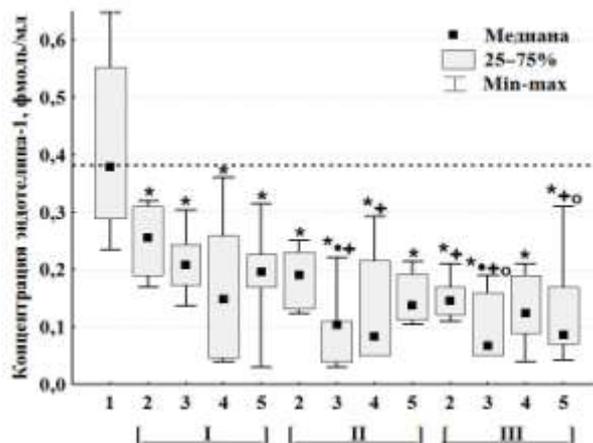


Рис. 1. Концентрация ЭТ-1 в плазме крови больных ГЛПС различной степени тяжести на фоне базисной лекарственной терапии
 1 – контроль, 2 – период лихорадки, 3 – период олигурии, 4 – период полиурии, 5 – период восстановленного диуреза. I – среднетяжелая форма, II – тяжелая форма без осложнений, III – тяжелая форма с осложнениями. Статистическая значимость различий по сравнению: * – с контролем, • – с предыдущим периодом ($p < 0,05$); + – со среднетяжелой формой ($p < 0,05$), o – с тяжелой формой без осложнений ($p < 0,05$); пунктирная линия – медианное значение для контроля. * – $p < 0,05$ с поправкой FDR

Таблица 1

Дисперсионный анализ влияния периода и формы тяжести ГЛПС на концентрацию эндотелина-1 в плазме крови больных

Показатель	Сумма квадратов, SS	Степени свободы, df	Дисперсия, MS	Критерий Фишера, F	p
влияние периода	0,018	3	0,006	0,516	0,673
влияние формы тяжести	0,148	2	0,074	6,388	0,003
зависимость изменения концентрации ЭТ-1 от формы тяжести ГЛПС	0,022	6	0,004	0,320	0,924

Таблица 2

Среднее артериальное давление у больных ГЛПС различной формы тяжести на фоне базисной лекарственной терапии, мм рт. ст.

Период заболевания	Форма заболевания		
	среднетяжелая	тяжелая без осложнений	тяжелая с осложнениями
лихорадки	96,5 [88,0; 100,0] p=0,03	80,0 [80,0; 83,0] p=0,03; p ₁ =0,01	83,0 [80,0; 87,0] p=0,3; p ₁ =0,03; p ₂ =0,4
олигурии	93,0 [90,0; 97,0] p=0,02	83,0 [80,0; 83,0] p=0,05; p ₁ =0,0008	80,0 [73,0; 93,0] p=0,04; p ₁ =0,02; p ₂ =0,03
полиурии	93,0 [90,0; 97,0] p=0,02	97,0 [93,0; 101,5] p=0,0005; p ₁ =0,01	100,0 [83,0; 110,0] p=0,02; p ₁ =0,04; p ₂ =0,06
восстановл. диуреза	93,0 [93,0; 100,0] p=0,01	93,0 [93,0; 97,0] p=0,01; p ₁ =0,96	94,0 [90,0; 97,0] p=0,01; p ₁ =0,1; p ₂ =0,5
Контроль 83,0 [83,0; 88,5]			

Примечание: p – статистическая значимость различий с контролем ($p < 0,046$ с поправкой FDR), p₁ – статистическая значимость различий со среднетяжелой формой, p₂ – статистическая значимость различий с тяжелой формой без осложнений

Корреляционная зависимость между концентрацией эндотелина-1 в плазме крови и уровнем среднего артериального давления больных ГЛПС различной формы тяжести по Спирмену, R

Период заболевания	Форма заболевания		
	среднетяжелая	тяжелая без осложнений	тяжелая с осложнениями
лихорадки	+0,05; p=0,6	+0,6; p=0,06	+0,3; p=0,4
олигурии	-0,3; p=0,4	-0,3; p=0,4	+0,9; p=0,02
полиурии	+0,005; p=0,9	+0,1; p=0,6	-0,7; p=0,06
восстановленного диуреза	+0,3; p=0,5	+0,3; p=0,6	-0,2; p=0,5

Феномен статистически значимо низкого уровня ЭТ-1 на всем протяжении болезни при всех формах ее тяжести явился мотивом для выяснения причины данного явления и прежде всего установления связи полиморфных вариантов гена этого пептида с тяжестью течения ГЛПС. По нашим данным, различия в распре-

лении частот генотипов и аллелей полиморфного локуса *rs5370* гена ЭТ-1 между больными ГЛПС и серонегативными донорами, а также между группами больных различной степени тяжести статистически незначимы (рис. 2). Следовательно, данный полиморфный локус не ассоциирован тяжестью течения ГЛПС.

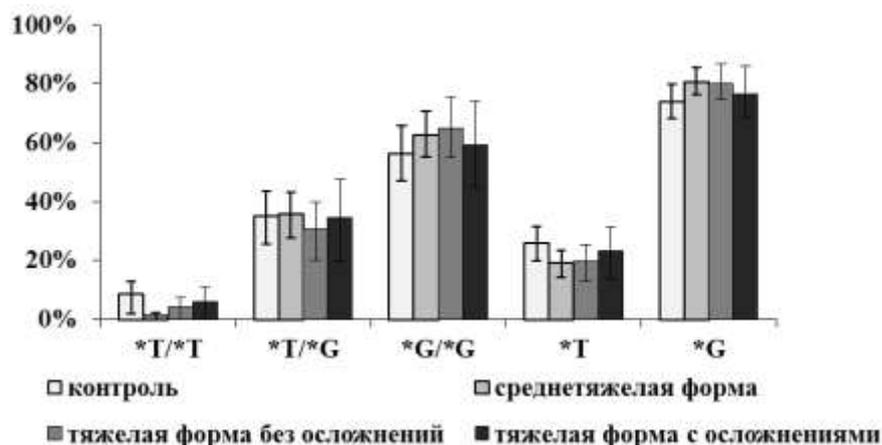


Рис. 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса *rs5370* гена эндотелина-1 (ET-1*G5665T) у больных ГЛПС различной формы тяжести и серонегативных доноров

Таким образом, ГЛПС сопровождается развитием вазомоторной формы дисметаболизма эндотелия, проявляющейся, в частности, в снижении продукции ЭТ-1 его клетками. Патогенетическая целесообразность подобной реакции, вероятно, обусловлена рядом причин. С одной стороны, проявляя в малых концентрациях сосудорасширяющий эффект, ЭТ-1 обес-

печивает адекватную микроциркуляцию в органах и тканях. С другой стороны, вазорелаксация сопровождается локальным повышением проницаемости сосудистой стенки, что является необходимым условием для успешной экстравазации моноцитов. С третьей, – возможно, сосудорасширяющий эффект малых доз ЭТ-1 в отдельные периоды ГЛПС в какой-то мере

смягчает выраженный вазоконстрикторный эффект системы ренин-ангиотензин в динамике болезни различной степени тяжести [1]. Подобная метаболическая перестройка эндотелия в ответ на вирусную агрессию при ГЛПС может быть трактована как одна из важных звеньев адаптации макроорганизма к действию патогена – возбудителя заболевания.

Выводы

1. ГЛПС различной степени тяжести характеризуется статистически значимо низким уровнем ЭТ-1 в крови больных на протяжении всей болезни.
2. Уровень ЭТ-1 в крови при ГЛПС зависит только от формы ее тяжести.
3. Полиморфный локус *rs5370* гена ЭТ-1 не ассоциирован с тяжестью течения ГЛПС.
4. Снижение продукции ЭТ-1 при ГЛПС генетически не детерминировано и является патогенетически целесообразным метаболическим ответом макроорганизма на внедрение эндотелиотропного вируса.

Литература

1. Байгильдина А.А. Система ренин – ангиотензинпревращающий фермент при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / А.А. Байгильдина //

Пермский медицинский журнал. – 2009. – Т. 26, № 6. – С. 80-86.

2. Савицкий Н.Н. Биофизические основы кровообращения и клинические методы изучения гемодинамики / Н.Н. Савицкий – Л.: Медицина. Ленингр. отд., 1974. – 403 с.

3. Hirata Y. Endothelin receptor subtype B mediates synthesis of nitric oxide by cultured bovine endothelial cells / Y. Hirata [et al.] // Clin. Invest. – 1993. – Vol. 91. – P. 1367-1373.

4. Peters C.J. Role of endothelium in viral hemorrhagic fevers / C.J. Peters, S.R. Zaki // Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 30, №5 (Suppl.). – P. 268-273.

5. Pries A.R. Normal endothelium / A.R. Pries, W.M. Kuebler // Handb. Exp. Pharmacol. – 2006. – Vol. 176, № 1. – P. 1-40.

6. Valbuena G. The endothelium as a target for infections / G. Valbuena, D.H. Walker // Annu. Rev. Pathol. – 2006. – Vol. 1, № 1. – P. 171-198.

7. Yang B. The significance of dynamic change of plasma endothelin level in epidemic hemorrhagic fever / B. Yang, Y. Ma, C. Liu // Zhonghua Nei Ke Za Zhi. – 1995. – Vol. 34, № 6. – P. 396-399.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Байгильдина Асия Ахметовна – д.м.н., проф. кафедры биологической химии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, г. Уфа.
E-mail: baigildinaasia@mail.ru