

УДК 616.98:579.834.115:616.155.294 – 07

ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИЙ СИНДРОМ КАК ВАРИАНТ ПАТОЛОГИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЛЕПТОСПИРОЗЕ

¹Лебедев В.В., ¹Мойсова Д.Л., ²Подсадная А.А., ¹Свистунов Н.В.

¹ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Краснодар, e-mail: Lebedev_VV@mail.ru;

²ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница Министерства здравоохранения Краснодарского края

Цель. Обосновать наличие ГУС как варианта патологии гемостаза при лептоспирозе путем определения параметров внутрисосудистого гемолиза и эндотелиального повреждения. Пациенты и методы. У 370 пациентов с тяжелым течением лептоспироза наряду с общепринятыми клиническими и лабораторными методами обследования проводили определение свободного гемоглобина, активности Г-6ФДГ, гемоглобина мочи и ристомицин-кофакторной активности фактора Виллебранда. Результаты. В нашем исследовании установлена связь гемоглобинурии с уровнем свободного гемоглобина плазмы, Г-6-ФДГ плазмы и прямым билирубином, что позволяет считать гемоглобин мочи одним из показателей гемолиза эритроцитов при лептоспирозе. При тяжелой форме лептоспироза получены основные составляющие ГУС: гемолитическая анемия, острая почечная недостаточность, тромбоцитопения в сочетании с минимальными отклонениями в коагуляционных тестах. Показана высокая корреляционная связь показателей гемолиза с патологией почек и связь изолированной секвестрационной тромбоцитопении с маркером эндотелиальной дисфункции. Таким образом, ГУС может являться одним из вариантов гемостазиологических нарушений при лептоспирозе.

Ключевые слова: гемолитико-уремический синдром, тромбоцитопения, лептоспироз, гемолитическая анемия, фактор Виллебранда, гемостаз

HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME AS AN ALTERNATIVE OF HEMOSTASIS PATHOLOGY IN LEPTOSPIROSIS

¹Lebedev V.V., ¹Moysova D.L., ²Podsadnyaya A.A., ¹Svistunov N.V.

¹State-Funded Educational Institution of Higher Vocational Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnodar, e-mail: Lebedev_VV@mail.ru;

²State-Funded Healthcare Institution «Specialized Clinical Isolation Hospital» of the Ministry of Health of Krasnodar Territory, Krasnodar

Objective. To prove that HUS could be an alternative of hemostasis pathology in leptospirosis by detection parameters of intravascular hemolysis and endothelial injury. Patients and methods. We have detected free hemoglobin, G6PD activity, urine hemoglobin activity and ristomycin co-factor activity of the von Willebrand factor in 370 patients with severe leptospirosis in addition to common clinical and laboratory diagnostic methods. Results. We have found the connection between hemoglobinuria, free hemoglobin in blood plasma, G6PD in blood plasma and indirect bilirubin. It means the urine hemoglobin is the one of erythrocytes hemolysis indicators in leptospirosis. We have obtained basic components if HUS in severe leptospirosis: hemolytic anemia, acute renal failure, thrombocytopenia with light deviations in coagulation tests. We present the high correlation of hemolysis indicators with a renal pathology and of isolated sequestered thrombocytopenia with endothelial dysfunction marker. Therefore, HUS could be an alternative of hemostasiological deviations in leptospirosis.

Keywords: hemolytic-uremic syndrome, thrombocytopenia, leptospirosis, hemolytic anemia, von Willebrand factor, hemostasis

Патология системы гемостаза при лептоспирозе сложна и многообразна. Наряду с типичным ДВС-синдромом встречаются уремическая коагулопатия, изолированная секвестрационная тромбоцитопения, гемодилуционная коагулопатия и другие варианты [5]. Рядом ученых отмечено существование при лептоспирозе патологии только сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в виде эндотелиального повреждения и активации тромбоцитов без дальнейшего существенного влияния на коагуляционный каскад [2,3]. Это роднит гемостазиологические нарушения при лептоспирозе с одним из вариантов микроангиопатических расстройств – гемолитико-уремическим синдромом (ГУС). Laing R.W. et

al. (1990) [3] нашли характерные для ГУС зернистые гиалиновые тромбы, состоящие только из тромбоцитов без фибрина, в мелких сосудах мозга, сердца, легких и почек у больного, погибшего от лептоспироза. ГУС проявляется гемолитической анемией, почечной недостаточностью, тромбоцитопенией с кровоточивостью [8]. Главным звеном ГУС является повреждение эндотелия, что приводит к резкому уменьшению содержания простациклина, усилению продукции фактора Виллебранда (vWF), адгезии и агрегации тромбоцитов [4]. Поражение почек при ГУС вполне укладывается в картину локального варианта тромбогеморрагического синдрома с возможной дальнейшей трансформацией в классический ДВС

[7,8]. Характерным для ГУС является отсутствие выраженных нарушений в коагуляционном звене гемостаза и повышение содержания vWF. vWF синтезируется эндотелиальными клетками и мегакариоцитами. В ходе первичного гемостаза vWF осуществляет роль медиатора прикрепления тромбоцитов к субэндотелию. Функциональной характеристикой процесса «связывания» является ристомицин-кофакторная активность (vWF:RCo). Биологическая активность vWF тем выше, чем более выражено повреждение эндотелия и сильнее адгезия тромбоцитов [1].

Цель исследования: обосновать наличие ГУС как варианта патологии гемостаза при лептоспирозе путем определения параметров внутрисосудистого гемолиза и эндотелиального повреждения.

Материал и методы исследования

Под наблюдением находились 370 пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением иктерогеморрагического лептоспироза. Верификация диагноза осуществлялась путем выявления антител в РМАЛ. Для выявления параметров внутрисосудистого гемолиза определяли уровень свободного гемоглобина крови, гемоглобин мочи, активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). В качестве маркера эндотелиальной дисфункции определяли активность фактора Виллебранда. Гемоглобин мочи определяли полуколичественным методом с помощью диагностических полосок пента-ФАН (фирма «Лаксма», Чехия). Определение активности Г-6-ФДГ проводили кинетическим методом с УФ-детекцией с помощью фирменного набора реактивов (Sentinel ch.) на биохимическом анализаторе Сarmaу «Livia». Уровень свободного гемоглобина плазмы определяли методом Бинга в модификации Дервиза и Бялко (1966 г.). Ристомицин-кофакторную активность фактора Виллебранда изучали на анализаторе AP 2110 «Сонар» (г. Минск, 1998 г.). Контрольную группу составили 20 доноров станции переливания крови.

Результаты исследования и их обсуждение.

У всех наблюдавшихся больных уровень свободного гемоглобина (СГ) превышал норму и составил в среднем $6,5 \pm 0,9$ г/л. При этом максимальное повышение СГ зарегистрировано на 3-й неделе болезни – $10,2 \pm 0,5$ г/л. Однако и на 5-й неделе этот показатель все еще достоверно превышал норму ($p < 0,001$) и составил $4,7 \pm 0,9$ г/л. У больных с крайне тяжелым течением со СПОН уровень СГ достигал максимума раньше, чем у группы тяжелых больных. Уже на 2 неделе болезни у больных со СПОН СГ равен $17,6 \pm 2,9$ г/л, что достоверно выше, чем уровень СГ у остальных больных в этот период. При этом повышение СГ у больных с ОПН происходило раньше, чем у всех наблюдавшихся и составило

на 2-й неделе $12,2 \pm 1,1$ г/л. А у больных с РДСВ отмечены невысокие уровни СГ, особенно в разгар лептоспироза (2–3 недели). Сопутствующие алкоголизм и хронический гепатит существенно не влияли на показатели СГ. В то же время у больных с выраженными нарушениями функции почек, сохраняющимися в реконвалесцентном периоде, показатель СГ превышал средние показатели для всей группы обследованных уже со 2-й недели лептоспироза и сохранялся достоверно более высоким в периоде реконвалесценции ($12,1 \pm 1,2$ г/л). После применения экстракорпоральных методов детоксикации на 3-й недели болезни отмечен наиболее высокий показатель СГ ($15,1 \pm 2,2$ г/л). Причем у этих больных уровень СГ в периоде ранней реконвалесценции также достоверно был выше, чем у остальных. Установлена прямая умеренная корреляционная связь между уровнем СГ и креатинина крови в разгар болезни. Таким образом, повышение СГ во все периоды лептоспироза свидетельствует о протекающем эритролизе, наиболее выраженном на 3 неделе болезни. Интенсивность гемолиза зависит от тяжести заболевания. При очень тяжелом течении со СПОН процесс гемолиза достигает максимума гораздо раньше, чем у остальных больных, но и быстрее снижается. Развитие ОПН совпадает по времени с резким повышением СГ. Эти данные могут указывать на возможную роль в патогенезе лептоспироза гемолитико-уремического синдрома. Взаимосвязь патологии почек и процесса гемолиза выявлена и в реконвалесцентном периоде.

Изучение активности Г-6-ФДГ эритроцитов с оценкой плазменного и внутриэритроцитарного уровней проводили в периоде разгара лептоспироза с 6 по 12 день болезни. В контрольной группе активность Г-6-ФДГ плазмы составила $0,21 \pm 0,05$ у.е., эритроцитов – $27,45 \pm 5,01$ у.е. В среднем активность Г-6-ФДГ плазмы в разные периоды заболевания у всех обследованных больных составила $0,49 \pm 0,1$ у.е., что достоверно превышало норму ($p < 0,05$). Наиболее выраженная активность Г-6-ФДГ плазмы наблюдалась в разгаре болезни ($0,57 \pm 0,04$ у.е.). Установлена прямая умеренная корреляционная связь между активностью Г-6-ФДГ плазмы и уровнем свободного гемоглобина крови у больных с тяжелым течением лептоспироза ($k = 0,57$). Количество ретикулоцитов также прямо коррелировало с уровнем Г-6-ФДГ плазмы ($k = 0,54$). В начальный период заболевания прямая умеренная корреляция наблюдалась между активностью Г-6-ФДГ и креатинином крови ($k = 0,48$). Установ-

лена прямая корреляционная связь Г-6-ФДГ плазмы с показателями общего и непрямого билирубина крови (0,47 и 0,51 соответственно). Существенной зависимости активности Г-6-ФДГ плазмы от наличия и выраженности ИТШ и ДВС-синдрома не установлено. У больных с гемоглинурией активность Г-6-ФДГ плазмы была достоверно выше, чем у остальных обследованных ($0,79 \pm 0,06$ у.е.).

Исследование Г-6-ФДГ эритроцитов показало, что на 2-й неделе болезни отмечается резкое снижение активности фермента эритроцитов у всех обследованных в среднем до $2,7 \pm 0,22$ у.е. ($p < 0,001$), что в 10 раз ниже контрольных значений. Минимальная активность Г-6-ФДГ эритроцитов отмечалась у 4 человек с крайне тяжелым течением и полиорганной недостаточностью ($1,35 \pm 0,02$ у.е.) и тяжелой анемией, которая развивалась на 3 неделе заболевания (Эр – $(2,5 \pm 0,04) \cdot 10^{12}/л$, Нв – $80,8 \pm 0,7$ г/л). Снижение активности Г-6-ФДГ эритроци-

тов у 83,3% обследованных предшествовало появлению анемии.

Гемоглинурия отмечена у 51,6% больных, причем в начальном периоде гемоглибин в моче выявлен у 22,8%, в периоде разгара – у 29%, в реконвалесценцию – лишь у 3,2%. У больных с ИТШ гемоглинурия зарегистрирована в 9 случаях 50%, с ДВС-синдромом – в 53,8%, с РДСВ – в 54,5%. У больных с ОПН гемоглибин в моче определялся значительно чаще – у 70% обследованных. Одновременно с определением гемоглибина в моче одну и ту же порцию мочи брали для выполнения общего анализа и пробы Нечипоренко. Корреляции между наличием эритроцитов в общем анализе мочи и гемоглинурией не получено.

Сравнительная характеристика общеклинических и биохимических показателей у больных тяжелой формой лептоспироза с гемоглинурией и без нее представлена в таблице.

Сравнительная характеристика общеклинических и биохимических показателей у больных тяжелой формой лептоспироза с гемоглинурией и без нее

Показатель	Больные с гемоглинурией	Больные без гемоглинурии	Все больные	P
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$	$2,86 \pm 0,05$	$2,99 \pm 0,04$	$2,92 \pm 0,03$	$<0,05$
Гемоглибин, г/л	$91,4 \pm 2,0$	$96,2 \pm 1,3$	$93,7 \pm 1,4$	$<0,05$
Мочевина, ммоль/л	$23,6 \pm 2,8$	$16,1 \pm 1,8$	$19,9 \pm 1,7$	$<0,05$
Креатинин, мкмоль/л	$301,3 \pm 28,5$	$220,9 \pm 22,8$	$262,4 \pm 16,6$	$<0,05$
Общий билирубин, мкмоль/л	$342,9 \pm 49,5$	$284,7 \pm 28,5$	$314,8 \pm 29,0$	$>0,05$
Прямой билирубин, мкмоль/л	$245,2 \pm 31,2$	$226,1 \pm 22,9$	$235,9 \pm 19,2$	$>0,05$
Непрямой билирубин, мкмоль/л	$106,5 \pm 13,4$	$53,3 \pm 6,2$	$79,9 \pm 9,9$	$<0,001$
Г-6-ФДГ плазмы, у.е.	$0,79 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,04$	$0,57 \pm 0,04$	$<0,001$
КФК, у.е.	$1210,8 \pm 660,7$	$1138,7 \pm 624,8$	$1172,2 \pm 445,6$	$>0,05$
СГ плазмы, г/л	$14,6 \pm 2,2$	$6,1 \pm 1,9$	$8,3 \pm 1,9$	$<0,01$
Эритроциты в моче по Нечипоренко, тыс.	$0,77 \pm 0,14$	$0,52 \pm 0,08$	$0,65 \pm 0,06$	$>0,05$

Примечание: p – достоверность различия между показателями у больных с гемоглинурией и без нее.

У больных с гемоглинурией в разгар лептоспироза наблюдаются достоверно более низкие показатели гемоглибина крови и эритроцитов. У больных с гемоглинурией достоверно выше оказались показатели гемолиза: свободный гемоглибин плазмы, Г-6-ФДГ плазмы и непрямого билирубина. При этом отличия показателей общего и прямого билирубина у больных с гемоглинурией и без нее были несущественны. У больных с гемоглинурией в разгар лептоспироза отмечены также достоверно более высокие уровни мочевины и креатинина. А вот количество эри-

троцитов в моче по пробе Нечипоренко в сравниваемых группах существенно не различалось. Удалось установить умеренную прямую корреляционную связь между уровнем СГ плазмы в начальный период болезни и выраженностью гемоглинурии в разгар лептоспироза у обследованных больных ($k = 0,54$).

В остром периоде заболевания тромбоцитопения со снижением тромбоцитов в среднем до $82,8 \pm 2,7 \cdot 10^9/л$ выявлена в 95,7% случаев. При этом минимальный уровень тромбоцитов составил $5,0 \cdot 10^9/л$. Из всей группы обследованных больных заре-

гистрированы всего 13 пациентов с уровнем тромбоцитов $150 \cdot 10^9/\text{л}$ и выше. У 24 человек уровень тромбоцитов составлял $100\text{--}150 \cdot 10^9/\text{л}$. У 90% ($n = 333$) обследованных регистрировалось снижение количества тромбоцитов ниже $100 \cdot 10^9/\text{л}$. Отличительной особенностью тромбоцитопении стало ее раннее появление уже в первые трое суток заболевания. Характерно также возникновение тромбоцитопении вне фазы коагулопатии потребления.

С целью выявления связи тромбоцитопении с выраженностью эндотелиального повреждения у 51 больного в динамике заболевания нами впервые определена ристомицин-кофакторная активность фактора Виллебранда (ФВ:РКо) на анализаторе AR 2110 (Минск). Известно, что ФВ синтезируется в эндотелии сосудов, инициирует агрегацию тромбоцитов и участвует в коагуляционном гемостазе. Активность ФВ – достоверный маркер дисфункции эндотелия [1, 4, 5]. В среднем ФВ:РКо достоверно превышала контрольные значения. При этом наибольшая активность регистрировалась на первой неделе болезни – $140,0 \pm 9,1\%$. Кроме того, у обследованных больных достоверно уменьшались степень агрегации и увеличивалась скорость агрегации по сравнению с контролем. У больных с крайне тяжелым течением лептоспироза отмечено достоверное снижение ФВ:РКо до ($109,7 \pm 4,8\%$), и снижение степени агрегации тромбоцитов до $41,9 \pm 4,3$. У больных с ОПН (III стадии) отмечается повышение ФВ:РКо до $128,7 \pm 3,3\%$, снижение степени агрегации тромбоцитов до $55,3 \pm 3,7$. У больных с выраженной гепатопатией отмечено повышение уровня ФВ:РКо до $126,7 \pm 2,7\%$, снижение степени агрегации тромбоцитов до $50,9 \pm 5,2$. Установлена умеренная обратная корреляционная связь между уровнем тромбоцитов и активностью ФВ ($k = -0,56$). Кроме того, у группы больных с выраженной тромбоцитопенией ФВ:РКо была достоверно выше в начальный период заболевания. При этом в разгаре инфекции активность фактора Виллебранда в сравниваемых группах достоверно не различалась.

Заключение

Повышение уровня СГ плазмы крови у больных лептоспирозом свидетельствует об интенсивности внутрисосудистого гемолиза. Уровень СГ зависит от степени тяжести заболевания, связан с глубиной поражения почек, определяет выраженность анемии в периоде разгара и реконвалесценции лептоспироза. Полученные данные подтверждают наличие гемолитического

компонента в развитии анемии при лептоспирозе. Особенно прогностически неблагоприятным является снижение активности эритроцитарной Г-6-ФДГ, что резко уменьшает устойчивость мембран эритроцитов в условиях эндогенной интоксикации. Это приводит к нарушению метаболизма эритроцитов, эритродиерезу, анемии, а в дальнейшем – к гипоксии, усугубляющей тяжесть течения заболевания и пролонгирующей реконвалесценцию. Выявленное снижение активности Г-6-ФДГ эритроцитов может являться одной из причин гемолиза, вносящего существенный вклад в формирование желтухи при лептоспирозе. Гемоглинурия отмечена у 51,6% обследованных больных с тяжелым течением лептоспироза и существенно чаще регистрировалась в начальный период и разгар заболевания. При этом гемоглинурия была отлична от гематурии и с наибольшей частотой встречалась у больных с ОПН. Установлена связь гемоглинурии с уровнем СГ плазмы, Г-6-ФДГ плазмы и непрямым билирубином, что позволяет считать гемоглинурию мочи одним из показателей гемолиза эритроцитов при лептоспирозе. Связь гемоглинурии с патологией почек может указывать на возможную роль гемолитико-уремического синдрома (синдрома Гассера) в патогенезе лептоспироза. Повышение ФВ:РКо в начальный период лептоспироза свидетельствует о повреждении сосудистого звена гемостаза. А корреляция тромбоцитопении с активностью ФВ подтверждает взаимосвязь эндотелиального повреждения с истощением тромбоцитарного звена гемостаза. Итак, мы получили при тяжелой форме лептоспироза основные составляющие ГУС: гемолитическую анемию, ОПН, тромбоцитопению в сочетании с минимальными отклонениями в коагуляционных тестах. В нашем исследовании показана высокая корреляционная связь показателей гемолиза с патологией почек и связь изолированной секвестрационной тромбоцитопении с маркером эндотелиальной дисфункции. Таким образом, ГУС может являться одним из вариантов гемостазиологических нарушений при лептоспирозе. Частота данного варианта подлежит дальнейшему изучению и уточнению.

Список литературы

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед, 2001. – 296 с.
2. Homs C., Olave T., Benito R., Iturbe T., 2003. Plasma exchange support therapy in icterohemorrhagic leptospirosis // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 21, 166–167.
3. Laing R.W., Teh C., Toh C.H., 1990. Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP)

complicating leptospirosis: a previously undescribed association. *J. Clin. Pathol.* 43, 961–962 (letter).

4. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. – М., 1993.

5. Мойсова Д.Л., Лебедев В.В., Подсадняя А.А. Нарушения гемостаза при лептоспирозе // *Инфекц. болезни.* – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 67–74.

6. Перов Ю.Л., Ходасевич Л.С. Патологоанатомическая диагностика гемолитико-уремического синдрома у детей // *Методические рекомендации.* – М., 1995.

7. Ходасевич Л.С. К патологической анатомии генерализованной стрептококковой инфекции // *Архив патологии.* – 1990. – Вып. 12. – С. 19–24.

References

1. Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostika i kontroli-ruemaja terapija narushenij gemostaza. M: «N'judiamed», 2001. 296 p.

2. Homs C., Olave T., Benito R., Iturbe T., 2003. Plasma exchange support therapy in icterohemorrhagic leptospirosis. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 21, 166–167.

3. Laing R.W., Teh C., Toh C.H., 1990. Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) complicating leptospirosis: a previously undescribed association. *J. Clin. Pathol.* 43, 961–962 (letter).

4. Lychev V.G. Diagnostika i lechenie disseminirovannogo vnutrisosudistogo svertyvaniya krovi. M., 1993.

5. Mojsova D.L., Lebedev V.V., Podsadnjaja A.A. Narusheniya gemostaza pri leptospiroze // *Infekc. bolezni.* 2012. T.10, no. 3. pp. 67–74.

6. Perov Ju.L., Hodasevich L.S. Patologoanatomicheskaja diagnostika gemolitiko-uremicheskogo sindroma u detej // *Metodicheskie rekomendacii.* M., 1995

7. Hodasevich L.S. K patologicheskoj anatomii generalizovannoj streptokokkovoju infekcii // *Arhiv patologii.* 1990. Vyp. 12. pp. 19–24.

Рецензенты:

Павлюченко И.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар;

Горбань В.В., д.м.н., заведующий кафедрой поликлинической терапии с курсом ОВП (семейная медицина) ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 22.05.2013.