

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ РОЖИ

Л.И. Ратникова, Т.А. Дубовикова

Челябинская государственная медицинская академия, Челябинск

**Assessment of vascular-platelet hemostasis in patients with hemorrhagic forms of erysipelas**

L.I. Ratnikova, T.A. Dubovikova

Chelyabinsk State Medical Academy, Chelyabinsk

**Резюме.** В статье представлены результаты исследования состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в динамике у больных геморрагическими формами рожи. Установлено повышение агрегационной способности тромбоцитов на фоне уменьшения их общего количества при данных клинических формах заболевания. Наибольшие изменения были характерны для буллезно-геморрагического процесса при исследовании коллаген-индуцированной агрегации. Также было выявлено наличие дисфункции эндотелия по повышению активности фактора Виллебранда.

**Ключевые слова:** рожа, сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, дисфункция эндотелия.

### Введение

Рожа — инфекция наружных покровов, вариант стрептококковых заболеваний группы А, — чрезвычайно распространена в современном мире и является одной из актуальных медико-социальных проблем здравоохранения [3, 5]. Это объясняется не только отсутствием тенденции к снижению на протяжении многих десятилетий, но и частым рецидивированием и возможностью развития серьезных осложнений [5, 7, 11].

По данным многих авторов, последние десятилетия характеризуются эволюцией клинического течения рожи, связанной с увеличением удельного веса геморрагических форм болезни [6, 12].

Представляет значительный научный и практический интерес изучение состояния свертывающей системы у больных геморрагическими формами рожи. Следует отметить, что, несмотря на несомненные успехи, достигнутые в изучении роли гемостаза в патогенезе рожи [1, 5, 10, 13, 14], причины развития регионарных проявлений тромбогеморрагического синдрома у больных рожей до конца не ясны. Многие детали самого механизма все еще нуждаются в уточнении и дальнейшем детальном изучении. В частности, важным представляется исследование первичного этапа коагуляционного каскада.

**Abstract.** The article presents the results of the research of vascular-platelet hemostasis in dynamics with the patients with hemorrhagic forms of erysipelas. Found an increase platelet aggregation in the background of a decrease in the total number of the given clinical forms of the disease. The greatest changes were typical for bullosa hemorrhagic process in the study of collagen-induced aggregation. Also revealed the presence of endothelial dysfunction by increased activity of von Willebrand factor.

**Key words:** erysipelas, vascular-platelet hemostasis, endothelial dysfunction.

**Цель исследования** — изучить роль сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в патогенезе развития геморрагических форм рожи.

### Задачи исследования

1. Выявить изменение количественного содержания кровяных пластинок у пациентов с эритематозно-геморрагической и буллезно-геморрагической формами рожи.
2. Охарактеризовать спонтанную и индуцированную агрегационную активность тромбоцитов у рассматриваемой группы больных в остром периоде и на этапе ранней реконвалесценции.
3. Определить активность фактора Виллебранда как маркера эндотелиальной дисфункции в динамике заболевания.

### Материалы и методы

Источниковую популяцию составили 122 пациента с диагнозом «рожа», госпитализированные в специализированное инфекционное отделение Городской клинической больницы № 8 города Челябинска с 2007 по 2009 г. Больные были отобраны методом сплошной выборки согласно определенным критериям.

В данную работу включались пациенты на условиях добровольного информированного согласия

в возрасте от 18 до 65 лет с клинически подтвержденным диагнозом эритематозной, эритематозно-геморрагической или буллезно-геморрагической рожи в острый период болезни независимо от кратности и распространенности процесса (критерии включения).

Критериями исключения были следующие состояния: возраст менее 18 и более 65 лет, наличие декомпенсированной соматической патологии у заболевших рожей, хроническая сердечная недостаточность (ХСН выше IIa стадии), отягощенный наследственный анамнез по тромбозам, наличие тромботических событий в анамнезе, варикозная болезнь вен нижних конечностей с проявлением хронической венозной недостаточности II и более степени по CEAP (Международная классификация: C – clinic, E – etiology, A – anatomy, P – pathophysiology), системные болезни соединительной ткани, аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования на момент исследования и в анамнезе менее 5 лет. Также исключаются факторами являлись алкогольная и наркотические зависимости, ментальные расстройства, затрудняющие контакт, отказ от участия в исследовании.

В соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 1964, 2008 ред.) в работе со здоровыми людьми и пациентами соблюдались этические принципы.

Для реализации предпринятого исследования, согласно цели и задачам, были сформированы следующие группы наблюдения. В I группу были включены пациенты с эритематозно-геморрагической формой рожи (54 человека), II группу составили 38 человек с буллезно-геморрагическими проявлениями в местном статусе. Первые две группы являлись основными. Для оценки степени достоверности полученных данных, были выделены также дополнительные группы: III – 30 заболевших эритематозной формой. В референтную (IV группу) вошли 22 человека из группы условно-здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Общеклинический анализ крови с определением количества тромбоцитов с помощью автоматического анализатора пациентам групп наблюдения проводился на базе клинической лаборатории Городской клинической больницы № 8. Выражали результат числом клеток  $\times 10^9/\text{л}$ .

Материалом для исследования агрегации кровяных пластинок являлась венозная кровь, забранная в вакуумную пробирку, содержащую 3,8% раствор цитрата натрия. Соотношение объемов крови и антикоагулянта – 9:1. Показатели гемостазиограммы, принципы методов их определения,

а также авторы методик и реактивы приведены в таблице 1.

Таблица 1

### Методы исследования агрегационной способности тромбоцитов

Показатель	Принцип метода	Реактивы	Методика
Определение адреналин-индуцированной (2,5 мкМ) агрегации тромбоцитов	Характеристика агрегации проводится по величине падения оптической плотности	«Технология-Стандарт», Барнаул, анализатор агрегации AP 2110 «Солар»	Турбидиметрический метод G.V.R. Born
Определение АДФ-индуцированной (0,5 мкМ) агрегации тромбоцитов	Характеристика агрегации проводится по величине падения оптической плотности	«Технология-Стандарт», Барнаул, анализатор агрегации AP 2110 «Солар»	Турбидиметрический метод G.V.R. Born
Определение колаген-индуцированной (2 мг/мл) агрегации тромбоцитов	Характеристика агрегации проводится по величине падения оптической плотности	«Технология-Стандарт», Барнаул, анализатор агрегации AP 2110 «Солар»	Турбидиметрический метод G.V.R. Born
Определение активности фактора Виллебранда (N 50 – 150%)	Фактор вызывает агглютинацию тромбоцитов в присутствии ристомидина	«НПО РЕНАМ», Москва	По Evans и Osten, модификация Б.Ф. Архипова, Л.З. Баркагана

Исследование указанных параметров проводилось в остром периоде (2 – 5-й дни болезни) и в периоде ранней реконвалесценции (10 – 12-й дни от начала заболевания).

Статистический анализ проводился с помощью программы SPSS Statistics 12.01. Описательную статистику количественных переменных выражали в виде среднего, стандартной ошибки и 95% доверительного интервала для среднего с указанием нижней и верхней границы. Для оценки различий между группами в количественных признаках использовали непараметрические методы. Для сравнения распределений более чем двух независимых групп наблюдений применяли ранговый критерий Краскела – Уоллеса, тест Манна – Уитни. Проверка гипотез о различиях количественных переменных во времени внутри исследуемых выборок (кроме контрольной) проводилась с помощью критерия знаковых рангов Уилкоксона. При проведении всех видов статистического анализа нулевая гипотеза при сравнении групп отклонялась при уровне значимости  $< 0,05$ , что отвечает стандартам, принятым для медико-биологических исследований.

### Результаты и обсуждение

При анализе общеклинического исследования крови уровень тромбоцитов определялся в преде-

лах установленных нормальных величин ( $170 - 350 \times 10^9/\text{л}$ ). Однако достоверно ниже значения рассматриваемого признака отмечались у пациентов с геморрагическими проявлениями в клинической картине рожи. Наименьшими они были при буллезно-геморрагическом процессе (II группа). При проведении межгруппового сравнения выявлены статистически значимые различия между группами I – III ( $p = 0,035$ ), II – III ( $p = 0,015$ ), I – IV ( $p = 0,03$ ) и II – IV ( $p = 0,012$ ). Показатели степени снижения количества кровяных пластинок в сравнении I и II групп не нашли статистического подтверждения, как и в группах III – IV ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, для геморрагических форм заболевания (I, II) характерным явилось значимое снижение количества тромбоцитов относительно контроля, но в пределах нормальных популяционных значений. Выявленные закономерности подтверждают имеющиеся сведения об уровне тромбоцитов у больных рожей, описанные в литературе [1, 7, 8, 13].

Полученные данные в зависимости от группы отражены в таблице 2.

Таблица 2

**Уровень тромбоцитов в группах наблюдения ( $M \pm m$ , 95 % доверительный интервал – ДИ)**

Группа	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	
	$M \pm m$	ДИ
I (n = 54)	$216,6 \pm 11,8$	192,6 – 240,5
II (n = 38)	$211,6 \pm 9,98$	191,6 – 231,6
III (n = 30)	$256,8 \pm 19,9^* ; **$	216,1 – 297,5
IV (n = 22)	$258,7 \pm 18,8^{***} ; ****$	218,4 – 302,1

Значимость различий ( $p < 0,05$ ) при сравнении показателей между группами: \* – I–III, \*\* – II–III, \*\*\* – I–IV, \*\*\*\* – II–IV.

Немаловажное значение исследователями в области гемостаза придается функциональным особенностям тромбоцитов, а именно агрегационной способности под воздействием разных агонистов. В качестве последних использовали раствор АДФ в концентрации 0,5 мкМ, коллаген (конечная концентрация 2 мг/мл), адреналин (2,5 мкМ). Протокол исследования агрегации в богатой тромбоцитами плазме включал измерение максимальной скорости агрегации в процентах. На рисунке 1 представлены данные о спонтанной активности тромбоцитов в изучаемых группах. На обозначенной диаграмме можно отметить склонность к гиперагрегации при всех формах рожи по сравнению с контролем (IV группа, здоровые) –  $p = 0,045$ . Статистической же значимости при межгрупповом сравнении показателей среди пациентов с эритематозно-геморрагическими проявлениями (I), бул-

лезно-геморрагическим процессом (II) и эритематозным очагом (III) получено не было ( $p > 0,05$ ).

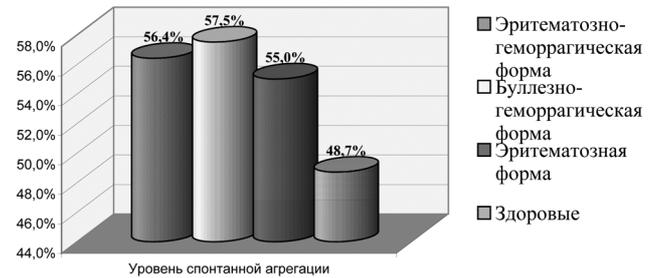


Рис. 1. Спонтанная агрегация тромбоцитов в группах наблюдения

Выявленная адреналин-индуцированная гиперагрегация тромбоцитов у больных рожей свидетельствует о резком повышении чувствительности рецепторного аппарата тромбоцитов к адреналину (рис. 2).

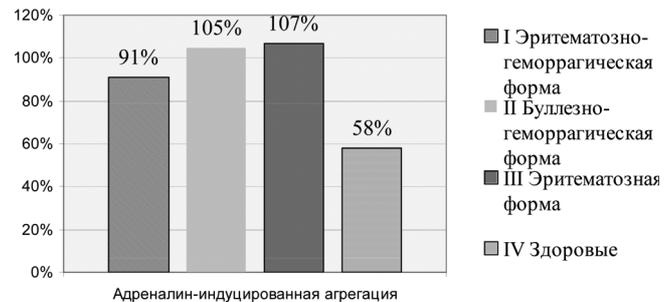


Рис. 2. Степень адреналин-индуцированной агрегации

На рисунке 2 видно достоверное повышение степени агрегации в группах I – III по сравнению с контролем (IV) –  $p = 0,031$ . Судить о выраженности данных изменений среди совокупностей пациентов не представляется возможным ввиду отсутствия статистической значимости на этапе сравнения I – II, I – III, II – III ( $p > 0,05$ ).

Аденозиндифосфат (АДФ) и коллаген также являются естественными агонистами агрегации тромбоцитов. Повышение степени консолидации кровяных пластинок при действии этих факторов у пациентов в сравнении с контрольной группой говорит о гиперагрегации, однако были выявлены признаки нарушения секреторных реакций (высвобождение агрегирующих агентов) по характерному снижению или отсутствию второй волны агрегации. Вероятно, данное нарушение секреторной активности является приобретенным, поскольку является известным фактом о развитии данной недостаточности вследствие инфекционных воздействий [4, 9]. Полученные сведения отражены на рисунке 3.

Была выявлена тенденция к меньшей выраженности агрегации у пациентов с геморрагическими

Таблица 3

формами по сравнению с эритематозной при общей повышенной консолидационной активности (при сопоставлении с показателями референтной группы). На рисунке 3 заметна большая реакция тромбоцитов на агонист коллаген. Возможно, это в большей степени указывает на генез гиперагрегации, связанный именно с первичным повреждением сосудистой стенки. Предположение об этом было высказано еще в конце 1980-х гг. [1, 14].

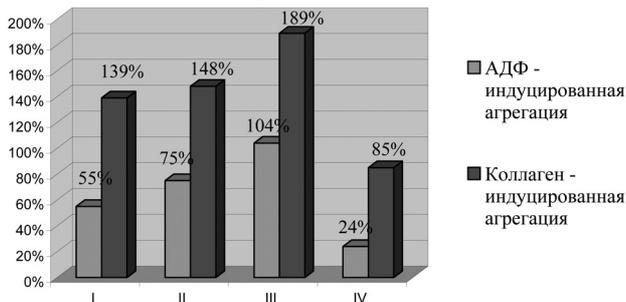


Рис. 3. Индуцированная агрегация под воздействием АДФ и коллагена

Участие адгезивных агентов эндотелия в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе является мало изученным при инфекционной патологии, в частности, при роже. В настоящем исследовании проведена оценка активности фактора фон Виллебранда (vWF) при геморрагических формах рассматриваемого заболевания.

Фактор Виллебранда является веществом, индуцирующим адгезию и агрегацию тромбоцитов на раннем этапе, еще до образования тромбина. Значительное повышение уровня vWF рассматривается как показатель дисфункции эндотелия [4, 16, 17].

По результатам проведенного анализа было достоверно установлено наличие дисфункции эндотелия у всех пациентов с различными проявлениями изучаемых форм рожи по значительному повышению активности фактора Виллебранда. Статистическая значимость была определена при проведении сравнения в разных вариациях между группами, кроме I (эритематозно-геморрагическая) и III (эритематозная) (табл. 3).

Полагаясь на обозначенные данные таблицы 3, можно заключить, что активность vWF, а значит, и повреждение сосудистой стенки, были наиболее выражены при буллезно-геморрагической форме рожи (II группа): в 2,3 раза больше по сравнению с контрольной (IV) и на 6% значительнее, чем при эритематозной форме (III).

В периоде ранней реконвалесценции сохранялась повышенной Виллебранд-индуцированная агрегация с тенденцией к восстановлению показателей, но не возвращающихся к нормальным значениям.

Активность фактора Виллебранда у больных рожей, % (M±m, 95% доверительный интервал – ДИ)

Группа	Период	Виллебранд-индуцированная агрегация (N 50 – 150 %)		Значимость
		M±m	95 % ДИ	
I n = 54	1	207,9±6,5	196,2 – 217,0	p (1) I – II = 0,037 p (1) I – III > 0,05
	2	197,3±6,7	188,2 – 204,4	
II n = 38	1	221,0±6,16	208,4 – 233,6	p (1) II – III = 0,045 p (1) I – IV = 0
	2	209,8±4,88	199,6 – 220,0	
III n = 30	1	206,7±5,18	194,0 – 221,8	p (1) II – IV = 0 p (1) III – IV = 0
	2	195,4±9,8	174,8 – 216,0	
IV n = 22	1	97,5±6,9	83,1 – 111,9	
	2	–	–	

1 – исследование в острый период болезни, 2 – исследование в период ранней реконвалесценции

При анализе данных литературы встретились неоднозначные суждения о роли клеточного звена гемостаза в патогенезе рожи. Отдельные исследователи [1] делают вывод о том, что в целом для больных рожей характерна активация тромбоцитарного звена гемостаза на фоне уменьшения числа кровяных пластинок. При этом делается акцент на отсутствии достоверных различий в показателях активации клеточного этапа коагуляционного каскада у больных с геморрагическими формами и пациентами с эритематозной рожей. Это позволило автору прийти к заключению об отсутствии существенного значения данных изменений в развитии местного геморрагического синдрома.

В более поздних источниках также имеются сведения об изучении тромбоцитарного гемостаза у больных рожей [13]. При этом отмечались разнонаправленные сдвиги (от гипер- к гипоагрегации) на рассматриваемом клеточном уровне у пациентов в зависимости от степени тяжести рожи без учета проявлений геморрагического синдрома в клинической картине. В работе [15] установлено нарушение агрегационной активности тромбоцитов и снижение порога их реакции на АДФ, наиболее выраженное при развитии геморрагических форм, особенно буллезно-геморрагической, а также снижение секреторной способности кровяных пластинок.

В труде [5] было также установлено статистически достоверное снижение степени АДФ-агрегации тромбоцитов у больных геморрагической рожей в острый период болезни. Вывод автора сводился к предположению о том, что снижение резистентности стенок капилляров с увеличением проницаемости для эритроцитов в воспалительный очаг обусловлено сниженной функциональной активностью.

Снижение АДФ-агрегационной активности у пациентов с геморрагической рожой в сравнении со здоровыми лицами было выявлено и другим исследователем [10].

Вышеописанное не позволяет однозначно определить роль тромбоцитарного звена в патогенезе рожи, особенно геморрагических форм болезни. Многие современные руководства по изучению гемостаза указывают на использование нескольких агонистов агрегации тромбоцитов для более объективной оценки [2, 4]. В большей же части описанных работ встретился лишь изолированный анализ действия АДФ на консолидацию кровяных пластинок. В результате проведенного нашего исследования с использованием разных агонистов агрегации были получены результаты, указывающие на активацию тромбоцитарного звена гемостаза, что согласуется с рядом исследований [1, 14].

### Заключение

Таким образом, на основании анализа полученных данных можно заключить следующее: для клинических форм рожи характерным являлось развитие гиперагрегации тромбоцитов в острый период заболевания в ответ на воздействие повреждения сосудистой стенки на фоне общего достоверного снижения уровня тромбоцитов. Это находит подтверждение в повышенной спонтанной агрегационной активности у пациентов в сравнении с референтной группой (здоровые лица) и в выраженной гиперагрегации на действие АДФ и коллагена, высвобождающихся из поврежденного эндотелия. Также было установлено наличие секреторной недостаточности тромбоцитов у пациентов с геморрагическими формами в сравнении с эритематозной формой болезни. Кроме того, выявлены проявления эндотелиальной дисфункции по достоверному повышению активности фактора Виллебранда у больных геморрагическими формами болезни, преимущественно с буллезно-геморрагическим характером воспаления.

### Литература

1. Бабакулиева, Т.Х. Состояние гемостаза и внутрисосудистое микросвертывание крови у больных геморрагическими формами рожи : автореф. дис. ...канд. мед. наук / Т.Х. Бабакулиева. — М., 1987. — 22 с.
2. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. — М., 2001. — 285 с.

3. Брико, Н.И. Тенденции развития эпидемического процесса и профилактика болезней, вызываемых стрептококками серогруппы А / Н.И. Брико // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — № 2. — С. 42—45.

4. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний : учебное пособие / под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. — СПб., 1999. — 117 с.

5. Еровиченков, А.А. Клинико-патогенетическое значение нарушений гемостаза и их коррекция у больных геморрагической рожой : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.А. Еровиченков. — М., 2003. — 48 с.

6. Еровиченков, А.А. Особенности современной клиники рожи как варианта течения стрептококковой инфекции / А. Еровиченков, Н. Брико, А. Горобченко // Врач. — 2004. — № 2. — С. 32—35.

7. Жаров, М.А. Рожа: клинико-эпидемиологическая характеристика, совершенствование методов лечения и прогнозирования течения болезни: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук / М.А. Жаров. — М., 2007. — 38 с.

8. Загидуллина, А.И. Патогенетическое значение процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и системы гемостаза, коррекция их нарушений методом озонотерапии при роже : автореф. дис. ...канд. мед. наук / А.И. Загидуллина. — СПб., 2005. — 19 с.

9. Зубаиров, Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д.М. Зубаиров. — Казань, 2000. — 367 с.

10. Митрофанова, М.Ю. Нарушения гемостаза и функции эндотелия сосудов у больных рожой : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.Ю. Митрофанова. — М., 2010. — 19 с.

11. Покровский, В.И. Стрептококки и стрептококкозы. / В.И. Покровский, Н.И. Брико, Л.А. Рясис. — М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2006. — 544 с.

12. Ратникова, Л.И. Клинико-эпидемиологическая характеристика рожи на современном этапе / Л.И. Ратникова, А.Н. Жамбурчинова, Н.Н. Лаврентьева // Инфекционные болезни. — 2006. — Т. 4, № 4. — С. 74—77.

13. Фазылов, В.Х. Нарушения гемостаза и иммунитета при формировании рецидивов рожи, их терапевтическая коррекция : автореф. дис. ...д-ра. мед. наук / В.Х. Фазылов. — СПб., 1996. — 35 с.

14. Черкасов, В.Л. Нарушения гемостаза и фибринолиза при геморрагической роже / В.Л. Черкасов [и др.] // Советская медицина. — 1989. — № 10. — С. 105—108.

15. Шабалина, О.Ю. Оценка функциональной активности тромбоцитарного звена гемостаза у больных рожой : автореф. дис. ...канд. мед. наук / О.Ю. Шабалина. — М., 2002. — 22 с.

16. Blann, A. Soluble markers of endothelial cell function / A. Blann, M. Seigneur // Clin. Hemorheol. and Microcirc. — 1997. — № 17. — P. 3—7.

17. Favalaro, E.J. Von Willebrand Factor assay proficiency testing continued / E.J. Favalaro // Am. J. Clin. Pathol. — 2011. — № 136(4). — P. 657—659.

### Авторский коллектив:

Ратникова Людмила Ивановна — заведующая кафедрой инфекционных болезней Челябинской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор; тел.: 8(351)772-83-88; e-mail: inf23@yandex.ru;

Дубовикова Татьяна Анатольевна — ассистент кафедры инфекционных болезней Челябинской государственной медицинской академии, аспирант; тел.: 8(351)772-83-88; +7-902-892-90-77, e-mail: tatyanaadubovikova@mail.ru.