

СРАВНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ И КАЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СИСТЕМЫ «Р-СЕЛЕКТИН – ТРОМБОЦИТЫ – ФАКТОР ФОН ВИЛЛЕБРАНДА – МЕТАЛЛОПРОТЕАЗА ADAMTS13» У БОЛЬНЫХ СЕПСИСОМ, ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ ПУРПУРОЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

Колосков А.В.¹, Дивакова Ю.В.², Беляева Е.Л.¹, Токарева И.П.¹, Каралевич С.А.¹, Чернова Е.В.¹, Филиппова О.И.¹, Авдеева Т.И.¹

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 191015, г. Санкт-Петербург, Россия

² СПб ГБУЗ «Городская больница № 26», 196247, г. Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Свертывающая система крови играет значимую роль в патогенезе сепсиса.

Цель: оценить изменения количественных и качественных характеристик фактора фон Виллебранда (von Willebrand factor, vWF), металлопротеазы ADAMTS13 и Р-селектина у больных сепсисом, сопоставив их с таковыми у больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (ИТП) и у здоровых лиц.

Материалы и методы. В исследование включили 56 больных, получавших лечение в связи развитием сепсиса различной этиологии, 12 больных ИТП и 50 здоровых волонтеров. В образце венозной крови исследовали: антиген vWF (vWF:Ag), GPIb-связывающую способность vWF (vWF:GPIb), связывающую способность vWF с коллагеном I типа (vWF:CBAI), связывающую способность vWF с коллагеном I типа III (vWF:CBAIII), Р-селектин, антиген ADAMTS13 (ADAMTS13:Ag), активность ADAMTS13 (ADAMTS13:AC) и антитела к ADAMTS13 (ADAMTS13:AB).

Результаты. Медианы показателей vWF:Ag, vWF:GPIb, vWF:CBAI и vWF:CBAIII у больных сепсисом были значимо выше по сравнению со здоровыми лицами и больными ИТП. Медиана показателя Р-селектина у больных сепсисом с тромбоцитопенией (1213 нг/мл [1104–1302]) была статистически значимо выше по сравнению как со здоровыми лицами (74,5 нг/мл [65,0–84,5], $p = 0,0001$), так и с больными ИТП (389,0 нг/мл [276,2–589,2], $p = 0,0001$). Медианы показателя ADAMTS13:Ag у больных сепсисом с тромбоцитопенией $<100 \times 10^9/\text{л}$ (0,49 ед/мл [0,44–0,71]) и у больных ИТП (0,67 ед/мл [0,62–0,76]) были значимо ниже по сравнению со здоровыми лицами (0,97 ед/мл [0,84–1,08], $p = 0,001$ и $p = 0,034$ соответственно), но медиана показателя ADAMTS13:Ag у больных сепсисом с тромбоцитопенией была статистически значимо ниже, чем у больных ИТП ($p = 0,038$). В 19,6 % наблюдений у больных сепсисом показатель ADAMTS13:AB был выше 10 ед/мл (19,60 ед/мл [12,10–26,73]), при этом медиана показателя Р-селектина в этой группе больных была значимо выше при сравнении с группой больных сепсисом с показателем ADAMTS13:AB менее 10 ед/мл (3,04 [2,11–3,94]): 1342 нг/мл [1271–1374] против 1130 нг/мл [1087–1271], $p = 0,003$, соответственно.

Заключение. Активация эндотелиальных клеток может лежать в основе увеличения количественных и качественных показателей vWF. Не выявлено влияния адгезивных характеристик vWF (vWF:GPIb, vWF:CBAI и vWF:CBAIII) на количество тромбоцитов в крови у больных сепсисом. Адгезия vWF к эндотелию посредством взаимодействия с Р-селектином через GPIb рецептор тромбоцитов может способствовать переходу vWF в конформационно активное состояние и приводить к снижению концентрации ADAMTS13 в циркуляции.

Ключевые слова: фактор фон Виллебранда, vWF:GPIb, vWF:CBAI, vWF:CBAIII, ADAMTS13, сепсис, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа не имела спонсорской поддержки.

Для цитирования: Колосков А.В., Дивакова Ю.В., Беляева Е.Л., Токарева И.П., Каралевич С.А., Чернова Е.В., Филиппова О.И., Авдеева Т.И. Сравнение количественных и качественных характеристик системы «Р-селектин — тромбоциты — фактор фон Виллебранда — металлопротеаза ADAMTS13» у больных сепсисом, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой и здоровых лиц. Гематология и трансфузиология. 2023; 68(3):335–343. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-68-3-335-343>

COMPARISON OF QUANTITATIVE AND QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF THE SYSTEM “P-SELECTIN – PLATELETS – VON WILLEBRAND FACTOR – METALLOPROTEASE ADAMTS13” IN PATIENTS WITH SEPSIS, IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA AND HEALTHY INDIVIDUALS

Koloskov A.V.¹, Divakova Yu.V.², Belyaeva E.L.¹, Tokareva I.P.¹, Karalevich S.A.¹, Chernova E.V.¹, Philippova O.I.¹, Avdeeva T.I.¹

¹ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, 191015, St. Petersburg, Russian Federation

² City Hospital No 26, 196247, St. Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The blood coagulation system plays a significant role in the pathogenesis of sepsis.

Aim: to evaluate changes in the quantitative and qualitative characteristics of von Willebrand factor (vWF), ADAMTS13 metalloprotease and P-selectin in patients with sepsis, comparing them with those in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and in healthy individuals.

Materials and methods. The study included 56 patients who received inpatient treatment due to the development of sepsis of various etiologies, 12 patients with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) and 50 healthy volunteers. In a venous blood sample, the following studies were performed: vWF antigen (vWF:Ag), GPIb-binding ability of vWF (vWF:GPIb), binding ability of vWF to type I collagen (vWF:CBAI), binding ability of vWF to type III collagen I (vWF:CBAIII), P-selectin, ADAMTS13 antigen (ADAMTS13:Ag), ADAMTS13 activity (ADAMTS13:AC) and antibodies to ADAMTS13 (ADAMTS13:AB).

Results. The median values of vWF:Ag, vWF:GPIb, vWF:CBAI, and vWF:CBAIII were significantly higher in patients with sepsis compared to healthy individuals and patients with ITP. The median P-selectin in patients with sepsis with thrombocytopenia 1213 ng/mL [1104–1302] was statistically significantly higher than in healthy individuals 74.5 ng/mL [65.0–84.5] ($p = 0.0001$), and with patients with ITP 389.0 ng/mL [276.2–589.2] ($p = 0.0001$). Median ADAMTS13:Ag in patients with sepsis with thrombocytopenia $<100 \times 10^9/l$ 0.49 U/mL [0.44–0.71] and in patients with ITP 0.67 U/mL [0.62–0.76] were significantly lower compared with healthy individuals 0.97 U/mL [0.84–1.08] ($p = 0.001$ and $p = 0.034$, respectively), but the median ADAMTS13:Ag in patients with sepsis with thrombocytopenia was statistically significantly lower than in patients with ITP ($p = 0.038$). In 19.6 % of cases in patients with sepsis, the ADAMTS13:AB index was higher than 10.0 U/mL (19.6 U/mL [12.1–26.7]), while the median P-selectin indicator in this group of patients was significantly higher when compared with a group of patients with sepsis with an ADAMTS13:AB score of less than 10.00 U/mL (3.04 [2.11–3.94]): 1342 ng/mL [1271–1374] vs. 1130 ng/mL [1087–1271], $p = 0.003$, respectively.

Conclusion. Activation of endothelial cells may underlie the increase in quantitative and qualitative indicators of vWF. Meanwhile, the effect of the adhesive characteristics of vWF (vWF:GPIb, vWF:CBAI and vWF:CBAIII) on the number of platelets in the blood of patients with sepsis was not revealed. Adhesion of vWF to the endothelium through interaction with P-selectin through the platelet GPIb receptor can promote the transition of vWF into a conformational-active state and lead to a decrease in the concentration of ADAMTS13 in the circulation.

Keywords: von Willebrand factor, vWF:GPIb, vWF:CBAI, vWF:CBAIII, ADAMTS13, sepsis, idiopathic thrombocytopenic purpura

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Koloskov A.V., Divakova Yu.V., Belyaeva E.L., Tokareva I.P., Karalevich S.A., Chernova E.V., Philippova O.I., Avdeeva T.I. Comparison of quantitative and qualitative characteristics of the system "P-selectin — platelets — von Willebrand factor — metalloprotease ADAMTS13" in patients with sepsis, idiopathic thrombocytopenic purpura and healthy individuals. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2023;68(3):335–343. (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-68-3-335-343>

Введение

Сепсис — это нерегулируемая реакция организма в ответ на инфекцию, сопровождающаяся значительными изменениями в свертывающей системе крови. В условиях воспаления баланс взаимодействия (точка гемостатического равновесия) плазменных факторов свертывания, тромбоцитов, эндотелия и естественных антикоагулянтов может смещаться в сторону развития протромботической ситуации. С другой стороны, при глубокой тромбоцитопении появляется риск геморрагических осложнений. Анатомически и функционально неповрежденный эндотелий важен для предотвращения образования микротромбов и возможного нарушения кровотока в системе микрососудов. Связанные с мембраной эндотелиальных клеток протеогликаны, гликопротеины и гликозаминогликаны входят в состав гелеобразной структуры — гликокаликса. В условиях воспаления гликокаликс разрушается активными формами кислорода и протеазами, что приводит к синтезу и активации молекул адгезии, таких как молекулы межклеточной адгезии 1 (inter-cellular adhesion molecule 1, ICAM-1 или CD54), E-селектин (E-selectin или CD62E) и P-селектин (P-selectin или CD62P), обеспечивающих привлечение нейтрофилов и моноцитов к поверхности эндотелия, а также активированных тромбоцитов [1]. Растворимый P-селектин представляет собой циркулирующий белок, полученный путем протеолиза мембранной формы P-селектина эндотелиальных клеток и тромбоцитов. Количество P-селектина в циркуляции повышается при патологических процессах, вовлекающих активированные эндотелиальные клетки и тромбоциты [2]. Кроме того, эндотелиальные клетки участвуют в гемостазе за счет фактора фон Виллебранда (von Willebrand factor, vWF), депонированного в тельцах Вейбеля — Паладе и тромбоцитах. vWF представляет собой мультифункциональный белок, который стабилизирует фактор VIII (FVIII), связывается с коллагеном субэндотелиальной выстилки и опосредует начальную адгезию тромбоцитов к участку повреждения сосуда в условиях высокого напряжения сил течения крови. Расправленные под воздействием силы течения крови в нить сверхкрупные мультимеры vWF обладают значительной тромбогенностью, они расщепляются на мелкие и менее тромбогенные формы специфической регуляторной металлопротеазой ADAMTS13 [3, 4].

Цель настоящего исследования — оценить изменения количественных и качественных характеристик vWF, ADAMTS13 и P-селектина у больных сепсисом, сопоставив их с таковыми у больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (ИТП) и у здоровых лиц.

Материалы и методы

Исследование выполнено в период с 01.06.2022 по 28.02.2023 на базе Санкт-Петербургского ГБУЗ «Городская больница № 26». Исследование одобрено локальным этическим комитетом СПб ГБУЗ «Городская больница № 26» (протокол № 2 от 27 апреля 2022 г.). При включении в исследование все больные и здоровые волонтеры подписали информированное согласие.

Для исключения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) всем больным выполняли исследование назофарингеальных мазков методом полимеразной цепной реакции. Критериями исключения, помимо выявления у больных COVID-19, было указание в анамнезе на ранее перенесенные тромбозы, кровотечения, которые требовали обращения за медицинской помощью, актуальные тромботические или геморрагические события, наличие злокачественных новообразований и системных заболеваний соединительной ткани.

В исследование включили 56 больных, получавших лечение в связи развитием сепсиса различной этиологии в условиях стационара, в возрасте от 37 до 89 лет (медиана возраста — 66,5 года), из них: 24 мужчины (42,9%) в возрасте от 37 до 84 лет (медиана возраста — 58,5 года) и 32 женщины (57,1%) в возрасте от 43 до 89 лет (медиана возраста — 72,5 года). Диагноз «сепсис» устанавливали согласно клиническим рекомендациям [5]. Для анализа полученных результатов больных сепсисом разделяли на группы:

1) 12 больных сепсисом (21,4%) с количеством тромбоцитов в крови свыше $150 \times 10^9/\text{л}$ (от 152 до $393 \times 10^9/\text{л}$, медиана количества тромбоцитов — $246 \times 10^9/\text{л}$) в возрасте от 43 до 84 лет (медиана возраста — 60 лет): 6 мужчин в возрасте от 50 до 84 лет (медиана возраста — 72 года), количество тромбоцитов в крови от 151 до $350 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $187 \times 10^9/\text{л}$) и 6 женщин в возрасте от 43 до 82 лет (медиана возраста — 75 лет), количество тромбоцитов в крови от 179 до $393 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $307 \times 10^9/\text{л}$);

2) 44 больных сепсисом (78,6%) и с тромбоцитопенией (количество тромбоцитов в крови не более $100 \times 10^9/\text{л}$: от 1 до $100 \times 10^9/\text{л}$; медиана количества тромбоцитов — $39,5 \times 10^9/\text{л}$) в возрасте от 37 до 89 лет (медиана возраста — 67 лет): 18 мужчин в возрасте от 37 до 84 лет (медиана возраста — 62,5 года), количество тромбоцитов в крови от 1 до $57 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $22 \times 10^9/\text{л}$) и 26 женщин в возрасте от 39 до 89 лет (медиана возраста — 73 года), количество тромбоцитов в крови от 6 до $100 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $40,5 \times 10^9/\text{л}$). Данную группу (больные сепсисом и тромбоцитопенией) разделяли на две подгруппы по степени выраженности тромбоцитопении:

2 а) 25 больных сепсисом (56,8% от больных сепсисом с тромбоцитопенией) с количеством тромбоцитов в крови менее $50 \times 10^9/\text{л}$ (от 1 до $42 \times 10^9/\text{л}$; медиана количества тромбоцитов — $22 \times 10^9/\text{л}$) в возрасте от 49 до 89 лет (медиана возраста — 65 лет): 10 мужчин в возрасте от 42 до 75 лет (медиана возраста — 52,5 года), количество тромбоцитов в крови от 1 до $23 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $12 \times 10^9/\text{л}$) и 15 женщин в возрасте от 53 до 89 лет (медиана возраста — 67 лет), количество тромбоцитов в крови от 6 до $42 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $35 \times 10^9/\text{л}$);

2 б) 19 больных сепсисом (43,2% от больных сепсисом с тромбоцитопенией) с количеством тромбоцитов в крови от 50 до $100 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $65 \times 10^9/\text{л}$) в возрасте от 37 до 86 лет (медиана возраста — 79 лет): 8 мужчин в возрасте от 37 до 84 лет (медиана возраста — 74 года), количество тромбоцитов в крови от 50 до $57 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $55 \times 10^9/\text{л}$) и 11 женщин в возрасте от 52 до 87 лет (медиана возраста — 79 лет), количество тромбоцитов в крови от 50 до $100 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $60 \times 10^9/\text{л}$).

В группу больных ИТП (в дебюте заболевания, до начала терапии) вошли 12 человек в возрасте от 48 до 80 лет (медиана — 64,5 года), количество тромбоцитов в крови от 3 до $19 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $11 \times 10^9/\text{л}$): 4 мужчин в возрасте от 58 до 72 лет (медиана — 64,5 года), количество тромбоцитов в крови от 3 до $12 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $7,5 \times 10^9/\text{л}$) и 8 женщин в возрасте от 48 до 80 лет (медиана — 63 года), количество тромбоцитов в крови от 7 до $19 \times 10^9/\text{л}$ (медиана количества тромбоцитов — $13 \times 10^9/\text{л}$). Все больные данной группы имели нормальную температуру тела и нормальный показатель С-реактивного белка.

В контрольную группу были включены 50 здоровых волонтеров в возрасте от 20 до 49 лет (медиана — 30,5 года): 25 мужчин в возрасте от 22 до 49 лет (медиана — 30 лет) и 25 женщин в возрасте от 20 до 43 лет (медиана — 31 год).

Для исследования в пробирку с цитратом натрия 3,2% забирали 5 мл крови и центрифугировали (лабораторная центрифуга «Beckman Coulter») на скоро-

сти 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученную плазму (два идентичных образца по 1,0 мл) переносили в микроцентрифужные пробирки и замораживали при температуре -20°C .

Количественную оценку vWF:Ag и vWF:GPIb выполняли с использованием тест-системы «INNOVANCE» (Siemens, Германия) на автоматическом анализаторе «CS-2000» (Sysmex, Япония). Для исследования показателей vWF:CBAI, vWF:CBAIII, ADAMTS13:Ag, ADAMTS13:AC и ADAMTS13:AB использовали реагенты фирмы «TECHNOZYМ» и «Technoclonе» (Technoclonе GmbH, Австрия), для оценки Р-селектина — реагенты «ReyBiotech» (ReyBiotech, США). Исследование выполняли иммуноферментным методом на автоматическом анализаторе «Infinite®F50» (Tecan, Англия).

Статистический анализ. Статистический анализ выполнен с применением программы «StatPlus Pro 7.6.1» (AnalystSoft Inc., Канада). Для оценки значимости различий между группами использовали *U*-критерий Манна — Уитни. Для оценки значимости различий зависимых выборок использовали критерий знаков для парных выборок. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Данные в тексте и таблицах представлены в виде медианы и межквартильного интервала.

Результаты

Медианы показателей vWF:Ag, vWF:GPIb, vWF:CBAI и vWF:CBAIII у больных сепсисом с тромбоцитопенией были значимо выше по сравнению со здоровыми лицами и с больными ИТП (табл. 1). Медианы данных показателей у больных ИТП были значимо выше при сравнении с аналогичными медианами у здоровых лиц. Медиана соотношения vWF:GPIb/vWF:Ag в группе больных сепсисом с тромбоцитопенией была статистически значимо выше по сравнению со здоровыми лицами. Имело место статистически значимое повышение этого показателя у больных ИТП по сравнению со здоровыми лицами, при этом значимого отличия при сравнении с группой больных сепсисом с тромбоцитопенией не было.

Медианы показателя ADAMTS13:Ag у больных сепсисом с тромбоцитопенией и больных ИТП были статистически значимо меньше по сравнению со здоровыми лицами (табл. 2). Медиана показателя ADAMTS13:Ag была значимо ниже у больных сепсисом с тромбоцитопенией по сравнению с больными ИТП. Медианы показателя ADAMTS13:AC не имели значимых отличий при сравнении исследуемых групп. Медиана показателя ADAMTS13:AB у больных сепсисом с тромбоцитопенией была значимо больше при сравнении как со здоровыми лицами, так и с больными ИТП. При сравнении двух последних групп значимых различий между медианами показателя ADAMTS13:AB не выявили.

Медиана показателя Р-селектина у больных сепсисом с тромбоцитопенией 1213 нг/мл [1104–1302] была статистически значимо выше по сравнению как со здоровыми лицами (74,5 нг/мл [65,0–84,5], $p = 0,0001$), так и с больными ИТП (389,0 нг/мл [276,2–589,2], $p = 0,0001$).

В таблице 3 представлены результаты исследования изучаемых показателей у больных сепсисом, разделенных на группы по количеству тромбоцитов, и у больных ИТП. Медианы показателей vWF:Ag, vWF:GPIb, vWF:CBAI и vWF:CBAIII не имели статистически значимых различий при сравнении групп больных с сепсисом, разделенных по количеству тромбоцитов в крови. При этом медианы показателей vWF:Ag, vWF:GPIb, vWF:CBAI и vWF:CBAIII были статистически значимо выше при сравнении каждой из изучаемых групп больных с сепсисом с группой больных ИТП. Медианы соотношения vWF:GPIb/vWF:Ag при сравнении представленных групп больных не имели статистически значимых различий.

Медианы показателя ADAMTS13:Ag (табл. 4) в группах больных сепсисом с количеством тромбоцитов $(50–100) \times 10^9/\text{л}$ и с количеством тромбоцитов более $150 \times 10^9/\text{л}$ были статистически значимо ниже по сравнению с больными ИТП. При сравнении медиан показателя ADAMTS13:AC в данных группах статистически значимых различий не было. Медиана показателя ADAMTS13:AB в группе больных сепсисом с количеством тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ была статистически значимо выше по сравнению с больными ИТП.

Медианы показателя Р-селектина в группах больных сепсисом, разделенных на группы по количеству тромбоцитов в крови, не имели статистически значимых различий при сравнении между этими группами 1271 нг/мл [1190–1327], 1149 нг/мл [1079–1229] и 1161 нг/мл [658–1342] (больных сепсисом с количеством тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$, с количеством тромбоцитов $(50–100) \times 10^9/\text{л}$ и с количеством тромбоцитов более $150 \times 10^9/\text{л}$ соответственно), но были статистически значимо выше ($p = 0,001$) при сравнении каждой из групп с группой больных ИТП (389,0 нг/мл [276,2–589,2]).

В ходе анализа полученных данных установлено, что у 11 больных с сепсисом (19,6%) показатель ADAMTS13:AB был выше 10 ед/мл: от 10,72 до 93,4 ед/мл (медиана — 19,6 ед/мл [12,1–26,7]), при этом медиана показателя Р-селектина в этой группе больных была значимо выше при сравнении с группой больных сепсисом с показателем ADAMTS13:AB менее 10 Ед/мл (от 1,19 до 6,52 ед/мл; медиана — 3,04 ед/мл [2,11–3,94]): 1342 нг/мл [1271–1374] против 1130 нг/мл [1087–1271], $p = 0,003$ соответственно.

Обсуждение

Одной из ключевых особенностей, отличающих физиологические и патологические механизмы свертывания крови, является фактор локализации тромбообразования. В этом аспекте септическое состояние создает

необходимые предпосылки для реализации модели свертывания крови, лишенного локализации вследствие вовлечения в воспалительный процесс значительной по площади эндотелиальной выстилки сосудистой стенки. Исходя из современных представлений, для реализации гемостатического (тромботического) потенциала vWF необходим его переход из глобулярной в нитевидную конформацию под воздействием силы течения крови. Важным элементом этого конформационного перехода является фиксация молекулы vWF на поверхности-якоря. В качестве такого якоря рассматривается коллаген субэндотелиальной выстилки, структуры атеросклеротической бляшки и молекулы адгезии, экспрессируемые на эндотелиоцитах; vWF и Р-селектин имеют совместную внутриклеточную локализацию в эндотелиальных клетках (тельца Вейбеля—Паладе) и α -гранулах тромбоцитов. Оба белка обладают способностью взаимодействовать с рецептором тромбоцитов GPIb, что позволяет рассматривать Р-селектин в качестве одного из участников механизма свертывания крови, способного взаимодействовать с vWF как минимум опосредованно через тромбоциты [6].

Как показали результаты выполненного исследования, медиана показателя Р-селектина у больных сепсисом с тромбоцитопенией была статистически значимо выше по сравнению как со здоровыми лицами, так и с больными ИТП. Медианы показателей vWF:Ag, vWF:GPIb, vWF:CBAI и vWF:CBAIII у больных в данной группе также статистически значимо превосходили аналогичные показатели у здоровых лиц и у больных ИТП (табл. 1). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях воспаления из эндотелиальных клеток в кровоток поступает не только большее количество vWF (vWF:Ag), но и значимо увеличиваются качественные показатели, характеризующие функциональную активность vWF, в том числе увеличиваются vWF:GPIb и соотношение vWF:GPIb/vWF:Ag. Хотя эти показатели у больных ИТП были значимо больше при сравнении со здоровыми лицами, тем не менее они уступали аналогичным показателям при сравнении с группой больных сепсисом с тромбоцитопенией. Данное обстоятельство, по-видимому, свидетельствует о том, что именно активация эндотелиальных клеток в первую очередь ответственна за увеличение концентрации vWF и повышение его функциональной активности.

По полученным данным не выявили значимых различий изучаемых характеристик vWF при сравнении групп больных сепсисом, сформированных по количеству тромбоцитов в крови (табл. 3). Можно предположить, что, несмотря на наличие общей точки взаимодействия в системе «Р-селектин — GPIb рецептор тромбоцитов — vWF», развитие тромбоцитопении у больных сепсисом не зависит от количественных и качественных характеристик vWF.

Таблица 1. Количественные и качественные характеристики vWF у здоровых лиц, больных сепсисом и ИТП
Table 1. Quantitative and qualitative characteristics of vWF in healthy individuals, patients with sepsis and ITP

Исследуемые группы Study groups	vWF:GPIIb %	vWF:Ag %	vWF:GPIIb/vWF:Ag	vWF:CBAI ед./мл/U/mL	vWF:CBAIII ед./мл/U/mL
Здоровые/Healthy n = 50	130,2 [*] . # [113,3–157,8]	121,4 [*] . # [103,3–142,8]	1,15 [*] . # [0,96–1,23]	1,24 [*] . # [0,95–1,36]	1,35 [*] . # [1,01–1,60]
Сепсис/Sepsis n = 44	529,4 [*] . & [461,8–562,2]	406,3 [*] . & [339,8–443,2]	1,30 [*] . & [1,23–1,38]	2,25 [*] . & [2,04–2,40]	2,32 [*] . & [2,29–2,49]
ИТП/ITP n = 12	229,0 [#] . & [162,6–498,6]	172,7 [#] . & [131,4–414,4]	1,24 [#] . & [1,24–1,29]	1,51 [#] . & [1,44–2,20]	1,74 [#] . & [1,52–2,23]
p	[*] p = 0,001	[*] p = 0,001	[*] p = 0,001	[*] p = 0,001	[*] p = 0,001
	[#] p = 0,001	[#] p = 0,003	[#] p = 0,003	[#] p = 0,001	[#] p = 0,001
	^{&} p = 0,001	^{&} p = 0,002	^{&} p = 0,089	^{&} p = 0,006	^{&} p = 0,001

Примечания: ^{*} статистические различия для групп здоровых и больных сепсисом; [#] статистические различия для групп здоровых и больных ИТП; [&] статистические различия для групп больных сепсисом и ИТП.

Notes: ^{*} statistical differences for groups of healthy and patients with sepsis; [#] statistical differences between groups of healthy and patients with ITP; [&] statistical differences for groups of patients with sepsis and ITP.

Таблица 2. Характеристики ADAMTS13 у здоровых лиц, больных с сепсисом и ИТП
Table 2. Characteristics of ADAMTS13 in healthy individuals, patients with sepsis and ITP

Группы Groups	ADAMTS13:Ag ед./мл/U/mL	ADAMTS13:AC ед./мл/U/mL	ADAMTS13:AB ед./мл/U/mL
Здоровые/Healthy n = 50	0,97 [*] . # [0,84–1,08]	0,84 [0,69–1,06]	2,20 [*] . [1,48–2,68]
Сепсис/Sepsis n = 44	0,49 [*] . & [0,44–0,71]	0,90 ^{&} [0,68–1,12]	3,91 [*] . & [2,61–5,63]
ИТП/ITP n = 12	0,67 [#] . & [0,62–0,76]	1,50 ^{&} [0,28–1,56]	2,25 ^{&} [2,1–2,4]
p	[*] p = 0,001		[*] p = 0,005
	[#] p = 0,034		
	^{&} p = 0,038	^{&} p = 0,081	^{&} p = 0,001

Примечания: ^{*} статистические различия для групп здоровых и больных сепсисом; [#] статистические различия для групп здоровых и больных ИТП; [&] статистические различия для групп больных сепсисом и ИТП.

Notes: ^{*} statistical differences for groups of healthy and patients with sepsis; [#] statistical differences between groups of healthy and patients with ITP; [&] statistical differences for groups of patients with sepsis and ITP.

Таблица 3. Количественные и качественные характеристики vWF у больных сепсисом, разделенных на группы по количеству тромбоцитов в крови, и у больных ИТП
Table 3. Quantitative and qualitative characteristics of vWF in patients with sepsis divided into groups according to the number of platelets in the blood and in patients with ITP

Исследуемые группы Study groups	vWF:GPIIb, %	vWF:Ag, %	vWF:GPIIb/vWF:Ag	vWF:CBAI, ед./мл/U/mL	vWF:CBAIII, ед./мл/U/mL
Сепсис (тромбоциты < 50×10⁹/л) Sepsis (platelets < 50×10 ⁹ /L), n = 25	532,0 [*] [490,1–558,0]	415 [*] [359,1–441,9]	1,28 [1,24–1,37]	2,22 [*] [2,01–2,38]	2,35 [*] [2,31–2,43]
Сепсис (тромбоциты 50–100×10⁹/л) Sepsis (platelets 50–100×10 ⁹ /L), n = 19	525,5 [#] [425,6–568,8]	391,7 [#] [310,1–445,3]	1,33 [1,24–1,40]	2,28 [#] [2,12–2,44]	2,30 [#] [2,00–2,52]
Сепсис (тромбоциты > 150×10⁹/л) Sepsis (platelets > 150×10 ⁹ /L), n = 12	490,3 ^{&} [475,8–498,1]	393,9 ^{&} [362,9–412,6]	1,27 [1,21–1,33]	2,27 ^{&} [1,99–2,46]	2,2 ^{&} [2,1–2,54]
ИТП/ITP n = 12	229,0 [*] . #. & [162,6–498,6]	172,7 [*] . #. & [131,4–414,4]	1,25 [1,21–1,29]	1,51 [*] . #. & [1,44–2,21]	1,74 [*] . #. & [1,52–2,30]
p	[*] p = 0,001	[*] p = 0,007		[*] p = 0,028	[*] p = 0,001
	[#] p = 0,001	[#] p = 0,008		[#] p = 0,007	[#] p = 0,008
	^{&} p = 0,042	^{&} p = 0,044		^{&} p = 0,011	^{&} p = 0,032

Примечания: ^{*} статистические различия для групп больных сепсисом (тромбоциты < 50×10⁹/л) и ИТП; [#] статистические различия для групп больных сепсисом (тромбоциты (50–100)×10⁹/л) и ИТП; [&] статистические различия для групп больных сепсисом (тромбоциты > 150×10⁹/л) и ИТП.

Notes: ^{*} statistical differences for groups of patients with sepsis (platelets < 50×10⁹/L) and ITP; [#] statistical differences for groups of patients with sepsis (platelets (50–100)×10⁹/L) and ITP; [&] statistical differences for groups of patients with sepsis (platelets > 150×10⁹/L) and ITP.

Таблица 4. Характеристики ADAMTS13 у больных сепсисом, разделенных на группы по количеству тромбоцитов в крови, и у больных ИТП
Table 4. Characteristics of ADAMTS13 in patients with sepsis, divided into groups according to the number of platelets in the blood and in patients with ITP

Исследуемые группы/Study groups	ADAMTS13:Ag	ADAMTS13:AC	ADAMTS13:AB
Сепсис (тромбоциты < 50×10⁹/л) Sepsis (platelets < 50×10 ⁹ /L) n = 25	0,62 [0,44–0,75]	0,97 [0,83–1,14]	4,11 ^{&} [2,56–5,52]
Сепсис (тромбоциты (50–100)×10⁹/л) Sepsis (platelets 50–100×10 ⁹ /L) n = 19	0,48* [0,44–0,63]	0,80 [0,59–1,01]	3,60 [2,93–6,20]
Сепсис (тромбоциты > 150×10⁹/л) Sepsis (platelets > 150×10 ⁹ /L) n = 12	0,42# [0,38–0,46]	1,01 [0,83–1,14]	3,85 [2,16–8,40]
ИТП/ITP n = 12	0,67*, # [0,62–0,76]	1,50 [0,27–1,56]	2,25 ^{&} [2,10–2,40]
p			^{&} p = 0,004
	* p = 0,011		
	# p = 0,002		

Примечание: * статистические различия для групп больных сепсисом (тромбоциты (50–100)×10⁹/л) и ИТП; # статистические различия для групп больных сепсисом (тромбоциты > 150×10⁹/л) и ИТП; & статистические различия для групп больных сепсисом (тромбоциты < 50×10⁹/л) и ИТП.

Note: * statistical differences for groups of patients with sepsis (platelets (50–100)×10⁹/L) and ITP; # statistical differences for groups of patients with sepsis (platelets > 150×10⁹/L) and ITP; & statistical differences for groups of patients with sepsis (platelets < 50×10⁹/L) and ITP.

Увеличение количественных и качественных характеристик vWF у больных сепсисом, с одной стороны, может рассматриваться как развитие протромботической ситуации, в частности за счет увеличения показателя функциональной активности vWF — vWF:GPIIb. С другой стороны, принимая во внимание неактивную глобулярную конформацию, в которой vWF находится в системе циркуляции, он не может самостоятельно инициировать клинически значимое тромбообразование без дополнительных триггеров. В частности, увеличение vWF:CBAl и vWF:CBAlII, по-видимому, не может быть реализовано без контакта vWF с субэндотелиальным коллагеном.

Анализ результатов исследования показателя ADAMTS13:Ag у больных сепсисом с тромбоцитопенией выявил интересную закономерность. Хотя медиана этого показателя была статистически значимо ниже у больных сепсисом с тромбоцитопенией при сравнении как со здоровыми лицами, так и с больными ИТП (табл. 2), при разделении этой группы больных на две подгруппы было установлено, что медиана показателя ADAMTS13:Ag в группе больных сепсисом с количеством тромбоцитов менее 50×10⁹/л значимо не отличалась от таковой при сравнении с группой больных ИТП (табл. 3). Статистически значимое снижение этого показателя по сравнению с больными ИТП имело место у больных сепсисом с количеством тромбоцитов (50–100)×10⁹/л. Аналогичный результат наблюдался при сравнении больных сепсисом с количеством тромбоцитов более 150×10⁹/л и больных ИТП. Выявленные закономерности могут быть следствием состоявшихся под воздействием силы течения крови конформационных переходов vWF, фиксированного

к эндотелию вследствие взаимодействия Р-селектин — GPIIb рецептор тромбоцитов — vWF. Фиксированный к эндотелию нитевидный vWF экспонирует экзосайты, специфичные для протеолитического воздействия ADAMTS13. Можно предположить, что в условиях сепсиса чем более выражена будет активация эндотелиальных клеток, тем большее количество функционально высокоактивного vWF будет фиксировано к поверхности эндотелиальных клеток и, совершив конформационный переход, станет объектом регуляторного воздействия ADAMTS13, направленного на расщепление мультимеров vWF и снижение его тромбогенного потенциала, что, в свою очередь, может привести к истощению пула ADAMTS13 в циркуляции. Тем не менее не уменьшающаяся по полученным в настоящем исследовании данным активность ADAMTS13 позволяет предотвратить развитие клинически значимого тромбообразования. Уменьшение вследствие тех или иных причин количества циркулирующих тромбоцитов затрудняет фиксацию vWF к поверхности эндотелиальных клеток, уменьшает количество конформационно активного vWF, взаимодействующего с ADAMTS13, и, таким образом, сохраняет концентрацию ADAMTS13 в кровотоке на более высоком уровне (табл. 4). Большее количество конформационных переходов vWF в активную форму приводит к большему объему протеолитического противодействия со стороны ADAMTS13. Протеолитически активная конформация ADAMTS13 обнажает криптогенные эпитопы данного фермента, обладающие иммуногенностью и индуцирующие выработку антител. С этих позиций можно дать объяснение выявленным в данном исследовании более высоким значениям показателя

Р-селектина у больных с показателем ADAMTS13:AB выше 10 Ед/мл по сравнению с больными, имеющими меньшее значения ADAMTS13:AB.

Таким образом, полученные в исследовании больных сепсисом характеристики системы «Р-селектин — тромбоциты — фактор фон Виллебранда — металлопротеаза ADAMTS13» позволяют высказать предположение о том, что активация эндотелиальных клеток лежит в основе увеличения количественных и качественных показателей vWF. Не выявлено влияния адгезивных характеристик vWF (vWF:GPIb, vWF:СВАI и vWF:СВАIII) на количество тромбоцитов в крови у больных сепсисом. Уменьшение количества тромбоцитов в крови у больных сепсисом, по-видимому, затрудняет переход vWF в активную нитевидную конформацию и является одним

из факторов снижения тромботического потенциала свертывающей системы крови. С другой стороны, большее количество тромбоцитов в крови больных сепсисом может обеспечить адгезию vWF к эндотелию посредством взаимодействия с Р-селектином через GPIb рецептор тромбоцитов. Бóльшее количество конформационных переходов vWF в активную конформацию может приводить к повышенному потреблению ADAMTS13. Сохраняющаяся достаточная активность ADAMTS13 может рассматриваться как еще один механизм защиты от патологического тромбообразования. Обнаруженное у части больных сепсисом повышение показателя ADAMTS13:AB свидетельствует еще об одном из возможных механизмов, оказывающих влияние на гемостатический баланс.

Литература

1. Дивакова Ю.В., Колосков А.В. Эндотелиально-тромбоцитарное взаимодействие при сепсисе. Гематология и трансфузиология. 2022; 67(3): 406–18. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-3-406-418.
2. Zhu D., Xu Z., Liu T., Li Y. Soluble P-selectin levels in patients with obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2021; 278(12): 4633–44. DOI: 10.1007/s00405-021-06831-4.
3. Чернова Е.В. Фактор Виллебранда. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2018; 10(4): 73–80. DOI: 10.17816/mechnikov201810473-80.
4. Колосков А.В., Мангушло А.А. Металлопротеаза ADAMTS-13. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(4): 471–82. DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482.
5. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W., et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. Crit Care Med. 2021; 49(11): e1063–143. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005337.
6. Andre P. P-selectin in haemostasis. Br J Haematol. 2004; 126(3): 298–306. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05032.x.

Информация об авторах

Колосков Андрей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5249-4255>

Дивакова Юлианна Владиславовна, заведующая отделением реанимации и интенсивной терапии СПб ГБУЗ «Городская больница № 26», e-mail: yulinna-divakova@yandex. ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7940-7510>

Беляева Елена Леонидовна, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: i7363783@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5406-8965>

References

1. Divakova Yu.V., Koloskov A.V. Endothelial-platelet interaction in sepsis. Gematologiya i transfuziologiya. 2022; 67(3): 406–18 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-3-406-418.
2. Zhu D., Xu Z., Liu T., Li Y. Soluble P-selectin levels in patients with obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2021; 278(12): 4633–44. DOI: 10.1007/s00405-021-06831-4.
3. Chernova E.V. Von Willebrand factor. Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I.I. Mechnikova. 2018; 10(4): 73–80 (In Russian). DOI: 10.17816/mechnikov201810473-80.
4. Koloskov A.V., Mangushlo A.A. Metalloprotease ADAMTS-13. Gematologiya i Transfuziologiya. 2019; 64(4): 471–82 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-471-482.
5. Evans L., Rhodes A., Alhazzani W., et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. Crit Care Med. 2021; 49(11): e1063–143. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005337.
6. Andre P. P-selectin in haemostasis. Br J Haematol. 2004; 126(3): 298–306. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05032.x.

Information about the authors

Andrey V. Koloskov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, e-mail: Andrei.Koloskov@szgmu.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5249-4255>

Yulianna V. Divakova, Head of the Department of Reanimation and Intensive Care, St. Petersburg City Hospital No 26, e-mail: yulinna-divakova@yandex. ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7940-7510>

Elena L. Belyaeva, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, e-mail: i7363783@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5406-8965>

Токарева Илана Петровна, старший лаборант, ординатор кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: ilanatokareva@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8835-8661>

Каралевич Софья Алексеевна, ординатор кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: karalevich8@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-0554-4844>

Чернова Екатерина Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: katernachernova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3791-4506>

Филиппова Ольга Ильинична, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: milidocor@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8142-5278>

Авдеева Татьяна Игоревна, ординатор кафедры гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: avdeeva.tanya@bk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1188-6024>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 27.06.2023

Принята к печати: 18.09.2023

Ilana P. Tokareva, Senior Laboratory Assistant, Resident, the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
e-mail: ilanatokareva@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8835-8661>

Sofia A. Karalevich, Resident, the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
e-mail: karalevich8@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-0554-4844>

Ekaterina V. Chernova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
e-mail: katernachernova@mail.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3791-4506>

Olga I. Filippova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
e-mail: milidocor@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8142-5278>

Tatiana I. Avdeeva, Resident, the Department of Hematology and Transfusiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov,
e-mail: avdeeva.tanya@bk.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1188-6024>

*** Corresponding author**

Received 27 Jun 2023

Accepted 18 Sep 2023