

УДК 616.921.5:616.24-002-037:612.017.1

Горбунов В.В., Лукьянов С.А., Говорин А.В.,
Романова Е.Н., Гергесова Е.Е., Горбунова Т.В.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЕЙ ВО ВРЕМЯ ПАНДЕМИИ ГРИППА А (H1N1) И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита
ГУЗ Краевой детский консультативно-диагностический центр, г. Чита
ГУЗ Забайкальский краевой консультативно-диагностический центр, г. Чита

С целью оценки клинического значения повреждения эндотелия у больных пневмонией при гриппе типа A (H1N1) и возможности его коррекции обследовано 115 пациентов во время эпидемии гриппа A(H1N1), 38 из которых госпитализированы в отделения интенсивной терапии. При подсчете числа десквамированных эндотелиоцитов в крови у всех больных обнаружено, что их количество значительно повышенено при тяжелой пневмонии и островом респираторном дистресс-синдроме. Выявлено, что назначение препарата Антистакс® позволяет уменьшить степень повреждения эндотелия, положительно влияет на течение пневмонии при гриппе A (H1N1) и на исход заболевания.
Ключевые слова: грипп A (H1N1), гриппозная пневмония, острый респираторный дистресс-синдром, эндотелиоциты, Антистакс.

*Gorbunov V.V., Lukyanov S.A., Govorin A.V.,
Romanova E.N., Gergesova E.E., Gorbunova T.V.*

DAMAGE OF AN ENDOTHELIUM AND POSSIBILITY OF ITS CORRECTION IN PATIENTS WITH PNEUMONIA ASSOCIATED WITH PANDEMIC INFLUENZA A (H1N1) VIRUS

To research endothelium alteration and possibilities of its correction in patients with pneumonia associated with influenza A (H1N1) we examined 115 patients with pneumonia caused by influenza A (H1N1), 38 of them were admitted to intensive care units. Endothelial cells amount was calculated in all patients, and it was found, that their level was considerably raised in patients with severe pneumonia and acute respiratory distress-syndrome. It was shown, that the appointment of Antistax® results to reduce endothelium alteration, makes good impact on a clinical course of the disease and its outcomes.

Key words: influenza A (H1N1), viral pneumonia, acute respiratory distress- syndrome, endothelial cells, Antistax.

Первой пандемией гриппа в XXI веке стала объявленная 11 июня 2009 года Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) пандемия гриппа типа А (H1N1), получившего известность среди обывателей как "свиной грипп". Появление вируса гриппа, имевшего более высокую по сравнению с сезонным контагиозность, обусловленную новыми антигенными свойствами, заставило ВОЗ повысить уровень

глобальной угрозы до 6-го (максимального) [5]. Помимо массового инфицирования людей в различных регионах мира, новый вирус отличала повышенная способность поражать нижние дыхательные пути и вызывать быстро прогрессирующую пневмонию, зачастую тяжелого течения. Именно развитие пневмонии приводило к госпитализации пациентов, обуславливало тяжесть их состояния и, в конечном итоге,

летальный исход при высокопатогенном гриппе. В США за пандемический период более 50 млн. человек перенесли грипп А (H1N1), более 200 тыс. были госпитализированы, умерли от 8330 до 17160 больных [1]. Одним из первых регионов на территории Российской Федерации, где началась эпидемия, и первым, где были официально зарегистрированы летальные исходы при пандемическом гриппе, стал Забайкальский край. В крае с населением 1 миллион 117 тысяч человек за 12 недель эпидемии ОРВИ различной степени тяжести перенесли более 129 тысяч (11,5% населения), в городе Чите - более 15% жителей (более 42 тысяч). Согласно критериям ВОЗ, эпидемия гриппа в Забайкалье была расценена как тяжелая [6,8]. Высокая частота развития поражения легких при гриппе А (H1N1) объясняется тропностью вируса к эпителиальным клеткам, в том числе и к клеткам эндотелия, что определяет характерную клиническую картину гриппа и гриппозной пневмонии (ГП). Повышенная проницаемость капилляров легких, а также чрезмерная индукция провоспалительных цитокинов, вызванные повреждением эндотелия, являются основными механизмами развития наиболее грозного осложнения гриппозной пневмонии - острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Предположения о том, что при гриппе типа А (H1N1) происходит также непосредственная инвазия вируса в клетки эндотелия, были подтверждены результатами недавних исследований, в ходе которых в эндотелиальных клетках легочных капилляров пациентов, умерших от ГП, были обнаружены антигены вируса гриппа А (H1N1) [12,15].

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей течения ГП во время эпидемии гриппа типа А (H1N1) в Забайкальском крае, клиническое значение повреждения эндотелия у этой группы больных и пути его коррекции.

Материал и методы

В исследование включены 115 кли-

нических случаев ГП у пациентов, находившихся на стационарном лечении в трех основных лечебно-профилактических учреждениях города Читы в период с октября по декабрь 2009 года. Исследования проводились с информированного согласия больных, также получено положительное решение локального этического комитета. У большинства пациентов диагноз гриппа А (H1N1) был прижизненно верифицирован методом полимеразной цепной реакции в реальном времени или реакцией торможения гемагглютинации с нарастанием титра антител в парных сыворотках. Из исследования были исключены пациенты моложе 15 и старше 70 лет, имевшие хроническую сердечную недостаточность II функционального класса по NYHA и выше, злокачественные новообразования. Всем пациентам проводились общеклинические лабораторные исследования: общий анализ крови и мочи, биохимическое исследование крови, посев мокроты. Пациентам с тяжелой пневмонией, находившимся в отделениях интенсивной терапии, проводилось исследование газового состава крови, коагулологические тесты. Всем больным проведена рентгенография органов грудной клетки и/или компьютерная томография.

Учитывая, что на сегодняшний день существуют различные способы объективизации эндотелиальной дисфункции (ЭД), одним из наиболее специфичных её признаков и самым доступным в рутинной клинической практике является определение в крови субстрата ЭД - десквамированных эндотелиальных клеток (ДЭК). В течение суток с момента поступления в стационар у всех больных проводился забор венозной крови с использованием в качестве консерванта 3,8% цитрата натрия. Количество ДЭК определяли при помощи осаждения их по классической методике J. Hladovec (1978) и подсчета в камере Горяева методом фазово-контрастной микроскопии [14].

Все пациенты получали противовирусную терапию озельтамивиром/занамивиром в рекомендуемых дозах, двухкомпонентную

антибактериальную терапию (преимущественно, защищенный пенициллин/цефалоспорин III поколения + макролид/респираторный фторхинолон) [3]. Всем больным тяжелыми пневмониями проводилась респираторная поддержка: инсуффляция увлажненного кислорода; неинвазивная вентиляция легких (НВЛ) в режимах BiPAP (вентиляция двухуровневым положительным давлением) и CPAP (постоянное положительное давление в дыхательных путях); при необходимости - интубация трахеи с искусственной вентиляцией легких, часто с высоким уровнем PEEP (положительное давление в конце выдоха).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета программ Statistica 6.0. Абсолютные величины представлялись в виде медианы, 25-го и 75-го перцентиля. Сравнение дискретных величин проводилось с использованием непараметрического критерия - χ^2 -квадрат Пирсона (χ^2), рассчитывали показатель относительного риска (ОР). Для сравнения количественных признаков независимых групп применялся U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке гипотез - $p=0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди включенных в исследование пациентов первичная вирусная пневмония была установлена в 25 (21,7%) случаях. Под первичной вирусной пневмонией (пневмонит) подразумевалось прямое вовлечение легких в патологический процесс, вызванный вирусом гриппа, пневмония у данной категории больных развилась на вторые-третьи сутки от острого начала гриппа. Вторичная вирусно-бактериальная пневмония выявлена у 82 (71,3%) пациентов, интервал между манифестиацией вирусной инфекции и поражением паренхимы легких составлял от 4 до 10 суток. Преимущественно бактериальная пневмония, как следствие перенесенной вирусной инфекции, установлена у 8 (6,9%) больных, развивалась в срок от 11-14 до 30 суток с того момента, как пациент переболел гриппом. Среди всех включенных в иссле-

дование больных у 38 (33,04%) выставлена тяжелая пневмония, эти пациенты были госпитализированы в отделения интенсивной терапии. Применялись критерии тяжести пневмонии, предложенные Американским торакальным обществом (ATS) совместно с Американским обществом инфекционных заболеваний (IDSA). В первую очередь выделялись пациенты со следующими показателями, достаточно специфичными для тяжелой ГП при гриппе A (H1N1): ЧДД >30/минуту; сатурация артериальной крови кислородом (SpO_2) <90%; отношение напряжения кислорода в артериальной крови к фракции кислорода во вдыхаемом воздухе PaO_2/FiO_2 <300 (признак острого повреждения легких - ОПЛ), и <200 (признак ОРДС); мультилобарная инфильтрация и лейкопения (уровень лейкоцитов $<4,0 \times 10^9/l$) [2]. Летальный исход наступил у 10 пациентов (8,69% от вошедших в исследование).

В предыдущих публикациях нами были выделены основные факторы риска тяжелого течения пневмонии при гриппе A (H1N1), а также критерии высокого риска летального исхода. В частности, индекс массы тела (ИМТ) >30 статистически значимо увеличивает риск тяжелого течения заболевания (ОР=2,36) и неблагоприятного исхода (ОР=4,36) [4]. Также прогностически неблагоприятными критериями являются: наличие признаков ОРДС, лейкопения (маркер тяжелого течения) и лейкоцитоз (маркер летального исхода), высокие уровни в крови КФК и ЛДГ [4].

В настоящее время широкое применение в оценке тяжести течения пневмонии получили шкалы CURB-65/CRB-65 и SMART-COP/SMRT-CO, а также шкала PORT (Pneumonia Outcomes Research Team). Недостатком вышеуказанных шкал при гриппе A (H1N1), осложненном пневмонией, является их направленность на пациентов старших возрастных групп (старше 65 лет), имеющих тяжелые сопутствующие заболевания, находящихся в домах престарелых. Гриппозная пневмония, напротив, часто

развивалась и тяжелее протекала у молодых, ранее абсолютно здоровых людей; были отмечены особые факторы риска: ожирение, беременность (особенно III триместр) [1,4].

Шкалы CURB-65 и SMART-COP позволяют решить вопрос о месте госпитализации пациента, но являются малоинформативными для оценки динамики течения заболевания. Несбалансированность шкалы PORT по возрасту ведет к недооценке тяжести состояния пациентов с пневмонией, осложненной септическим шоком или при наличии ОДН у молодых пациентов, что характерно для ГП при гриппе А (H1N1) [10]. Общепринятые шкалы органной дисфункции (SOFA, MODS-2), напротив, применимы лишь для пациентов, зачастую уже госпитализированных в реанимационное отделение.

В силу вышеуказанных причин в настоящем исследовании мы использовали шкалу, разработанную сотрудниками ГУ "Научно-исследовательский институт пульмонологии и фтизиатрии" и Белорусского государственного медицинского университета - ОТСП-2. Данная методика позволяет оценить тяжесть состояния больных на госпитальном этапе по 30 критериям, отражающим различные клинические, лабораторные и инструментальные аспекты пневмонии. При значении коэффициента (количество баллов/количество критериев) <1,7 пневмония считается тяжелой [7]. Среднее значение коэффициента по шкале ОТСП-2 у больных ГП при гриппе А (H1N1) на день поступления составило 1,64 [1,42; 2,1].

В течение суток с момента поступления в стационар, и в динамике у всех пациентов был определен уровень ДЭК в венозной крови. В качестве контроля выступила группа из 15 пациентов с пневмонией бактериальной этиологии, госпитализированных после окончания эпидемии (февраль-март 2010 года). Среднее количество ДЭК в крови пациентов с ГП составило $11,1 \pm 4,95$ в 1 мкл, данные о содержании ДЭК у обследованных больных представлены в таблице 1

Таблица 1
Содержание ДЭК при различных типах пневмонии

Группы больных	Медиана [25й; 75й пер-ли]
Нетяжелая ГП (n=77)	8 [6; 10,5]*
Тяжелая ГП (n=38)	16 [12,5; 18,75] * #
Бактериальная пневмония (n=15)	5 [3,3; 5,8]

* статистически значимое отличие от показателей бактериальной пневмонии;

статистически значимое отличие от показателей при нетяжелой ГП.

При сравнении с нормальными значениями, установленными J.Hladovec, которые составляют 2-4 в 1 мкл, трехкратное превышение нормы содержания ДЭК в среди пациентов с тяжелой ГП отмечено у 32 (84,2%), с нетяжелой ГП - у 14 (18,2%) человек, в контрольной группе не встречалось (рисунок 1). Пациенты тяжелой и нетяжелой ГП при гриппе А (H1N1) статистически значимо различались по уровню содержания ДЭК: $\chi^2=46,22$, $p<0,01$, $OP=8,0$.

Клинические проявления ОПЛ/ОРДС (двусторонние легочные инфильтраты + $PaO_2/FiO_2 < 300$) отмечены у 32 больных с тяжелой ГП, причем у 81% из них выявлено трехкратное и более превышение нормы содержания ДЭК. Среди пациентов без ОПЛ/ОРДС трехкратное и более превышение нормы содержания ДЭК установлено в 24 % случаев (n=20). Пациенты с ОПЛ/ОРДС и без ОПЛ/ОРДС статистически значимо различались по уровню ДЭК в крови: $\chi^2=31,43$, при уровне $p<0,01$, $OP=6,5$.

Высокий уровень ДЭК в крови больных ГП при гриппе А (H1N1) мы объясняем интенсивной васкуляризацией легких: легкие содержат в себе наибольшее, по сравнению с другими органами, количество эндотелиальных клеток - за счет легочных капилляров (рисунок 2). Рядом других авторов также проводилось определение ДЭК венозной крови по аналогичной



Рис.1. Десквамированный эндотелиоцит в крови пациента с ГП при гриппе А (H1N1).
Камера Горяева, нативный препарат. Увеличение 1:400.

методике, и были получены следующие результаты: при тяжелом отравлении уксусной кислотой (эндотелиальный яд) - $6,28 \pm 0,6$; при отморожениях конечностей II-IV степени (вплоть до ампутации) - $21,2 \pm 1,6$, что сопоставимо с тяжелой ГП при гриппе А (H1N1) [11,13].

Одним из методов коррекции эндотелиальной дисфункции, активно используемым в хирургии, особенно после перенесенной анаэробной инфекции (эндотоксины) является назначение эндотелиопротективных препаратов [9]. Одним из таких препаратов является Антистакс®. В нашем исследовании больные ГП при гриппе А (H1N1) были распределены на две группы методом кластерной рандомизации - по принципу нахождения в том или ином стационаре. В I группу вошли 64 пациента с ГП, получавшие противовирусную, антибактериальную терапию и респираторную поддержку согласно рекомендациям Минздравсоцразвития РФ (описано выше).

Во II группу включен 51 пациент, в дополнение к стандартной терапии больные этой группы получалиperorально Антистакс® в дозировке 360 мг в сутки в течение 5-7 дней; пациенты, находившиеся на ИВЛ - 720 мг/сутки. В день поступления, а затем на 6-7 сутки госпитализации у всех больных проводилось определение ДЭК крови, а также подсчет коэффициента тяжести пневмонии по шкале ОТСП-2.

Группы пациентов были сопоставимыми по основным клиническим и лабораторным показателям тяжести заболевания: возраст, ИМТ, ЧСС, ЧДД, SpO_2 , уровню лейкоцитов, тромбоцитов, КФК и ЛДГ крови, количеству эндотелиальных клеток, индексу тяжести пневмонии по шкале ОТСП-2. Сопоставимым было количество пациентов с тяжелой ГП в исследуемых группах (в I группе - 18, во II-ой- 20); а также больных, имевших синдром ОПЛ/ОРДС (по 16 человек в каждой группе). Данные представлены в табл. 2.



Рис.2. Десквамированные эндотелиоциты в крови пациента с ГП при гриппе А (H1N1). Камера Горяева, нативный препарат. Увеличение 1:200.

Таблица 2

Основные клинико-лабораторные показатели в исследуемых группах (1-е сутки госпитализации)

Показатель	Группа I (n=64)	Группа II (n=51)
	Ме [25й; 75й]	Ме [25й; 75й]
ИМТ, кг/м²	28 [24,5; 31,5]	27 [22; 30]
SpO²(%)	95 [91,5; 96]	93 [90; 96]
ЧДД	20 [19; 24]	20 [19; 25]
ЧСС	92 [87; 100]	96 [86; 100]
Лейкоциты (10⁹/л)	6,6 [4,2; 9,15]	5,8 [4,2; 9,2]
Тромбоциты (10⁹/л)	277 [209; 342]	250 [205; 287]
КФК (Ед/л)	82,5 [62,5; 181]	137 [65; 253]
ЛДГ (Ед/л)	296 [242; 441]	317 [250; 482]
ДЭК (10⁴/л)	9 [6,75; 13,25]	10 [8; 15]
ОТСП-2 (баллы)	1,5 [1,42; 2]	1,65 [1,46; 2,2]

Примечание: статистически значимых различий между группами не выявлено;

При контроле ДЭК крови и коэффициента тяжести пневмонии по шкале ОТСП-2 на 6-7 сутки госпитализации у больных II группы отмечалось статистически значимое снижение количества эндотелиальных клеток и коэффициента тяжести пневмонии по сравнению с I-ой группой (табл. 3).

Таблица 3

Контроль ДЭК и коэффициента ОТСП-2 (6-7 сутки госпитализации)

Показатель	Группа I (n=64)	Группа II (n=51)
	Ме [25й; 75й]	Ме [25й; 75й]
ДЭК (10⁴/л)	7 [5; 10]	5 [3; 8] *
ОТСП-2 (баллы)	1,31 [1,2; 1,56]	1,2 [1,07; 1,43] *

Примечание: статистически значимое различие между группами

Среди пациентов, получавших инвазивную ИВЛ в I группе (n=8) летальный исход наступил в 100% случаев, во II группе 4 человека находились на ИВЛ, в 50% случаев

наступил неблагоприятный исход. Статистически значимой разницы между группами в плане прогноза исхода заболевания у больных ГП при гриппе А (H1N1), получавших ИВЛ, не выявлено, вероятно, ввиду небольшого количества наблюдений. Тем не менее, при построении многофакторной регрессионной модели назначение Антистакса® значимо влияло на прогноз исхода заболевания (среди всех больных ГП при гриппе А (H1N1)) - данные в таблице 4.

Таблица 4

**Независимые предикторы
неблагоприятного исхода при ГП**

Показатель	β^*	Относительный риск (95% границы ДИ)	p-level
ОРДС	0,53±0,09	36 (5,0; 285)	0,0001
КФК	0,17±0,08	25,5 (3,37; 193)	0,02
Лейкоциты	0,14±0,05	4,75 (1,51; 14,88)	0,003
Антистакс	-0,13±0,05	3,18 (0,7; 14,36)	0,009

Примечание: beta-регрессионный коэффициент;

Выводы:

Таким образом, показано, что грипп типа А(H1N1) часто протекает с развитием гриппозной пневмонии (главным образом, вирусно-бактериальной) и острого респираторного дистресс-синдрома. Новые антигенные свойства вируса, обладающего высокой эндотелиотропностью, приводят к массивному повреждению эндотелия. Гриппозная пневмония и ОРДС характеризуются кратным увеличением содержания в крови десквамированных эндотелиоцитов. Назначение препарата Антистакс® позволяет уменьшить степень повреждения эндотелия, положительно влияет на течение ГП при гриппе А (H1N1), а также на прогноз у данной категории больных (кроме пациентов, находящихся на ИВЛ). Рекомендовано всем больным гриппозной пневмонией определять субстрат эндотелиальной дисфункции - ДЭК крови, и, по возможности, назначать эндотелиопротективные препараты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев С.Н. Пневмония и острый респираторный дистресс-синдром, вызванные вирусом гриппа А/H1N1 // Пульмонология. - М., 2010. - Приложение "Грипп А/H1N1: уроки пандемии". - С. 32-46.
2. Авдеев С.Н., Чучалин А.Г. Тяжелая внебольничная пневмония // Русский медицинский журнал. - 2001. - №5. - С. 127-133.
3. Временные методические рекомендации "Схемы лечения и профилактики гриппа вызванного вирусом типа А/H1N1 Минздравсоцразвития РФ в редакции от 3 ноября 2009 года". М., 2009.
4. Говорин А.В., Горбунов В.В., Лукьянов С.А., Романова Е.Н. Прогностическое значение некоторых клинических и лабораторных показателей у больных пневмонией во время пандемии гриппа типа А (H1N1) // Пульмонология. - 2011. - №1. - С. 41-45.
5. Колобухина Л.В. и др. Стратегия ранней противовирусной терапии при гриппе как профилактика тяжелых осложнений // Пульмонология. - М., 2010. - Приложение "Грипп А/H1N1: уроки пандемии". - С. 9-14.
6. Лапа С.Э. и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика эпидемии гриппа А(H1N1) в городе Чите. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции "Итоги эпидемии гриппа А/H1N1". - Чита, 2010. - С. 152-154.
7. Лаптева И.М. и др. Метод оценки тяжести состояния больных с внебольничной пневмонией // ГУ "Научно-исследовательский институт пульмонологии и фтизиатрии"; УО "Белорусский государственный медицинский университет". - Минск, 2008.
8. Новостной портал медицинского информационно-аналитический центра Министерства здравоохранения Забайкальского края <http://www.chitazdrav.ru>
9. Петухов В.А. и др. Эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса // Consilium Medicum. Приложение "Хирургия". - 2008. - №1. - С.3-11.

10. Руднов В.А. и др. Сравнительный анализ информационной значимости шкал для оценки тяжести состояния больных с внебольничной пневмонией, госпитализированных в ОРИТ // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2007. - № 9. - С. 330-336.
11. Соколова Н.А. и др. Патогенетическая взаимосвязь изменений агрегационной способности тромбоцитов и эндотелиальной дисфункции у больных с острым отравлением уксусной кислотой // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2011. - №1. - С. 91-94.
12. Чарторижская Н.Н., Сепп А.В. и др. Морфологическая характеристика поражения дыхательной системы при гриппе A/H1N1 в Забайкальском крае // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2011. - №39. - С.8-12.
13. Шаповалов К.Г. и др. Повреждение клеток эндотелия и содержание цитокинов в разные периоды местной холодовой травмы // Травматология и ортопедия России. - 2008. - № 47. - С.35-37.
14. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions // Physiol. Bohemoslov. - 1978. - Vol. 27, № 2. - P. 140 - 144.
15. Shieh W.J., et al. 2009 Pandemic H1N1 Influenza. Pathology and Pathogenesis of 100 Fatal Cases in the United States // Am. J. Pathol. - 2010. - Vol.177. - P.166-175.