

ПОРУШЕННЯ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ Й ФУНКЦІОНУВАННЯ ЕНДОТЕЛІЮ СУДИН У ПАЦІЄНТІВ НА ПРИХОВАНІ ФОРМИ СИФІЛІСУ

*Г.М. Бондаренко, І.М. Нікітенко, Г.О. Семко,
В.В. Кутова, І.В. Зюбан*

ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Резюме. *Проведено дослідження стану гемостазу та рівня продукції ендogenous оксиду азоту у 37 пацієнтів з прихованими формами сифілісу та 20 практично здорових донорів.*

Показано, що приховані форми сифілісу супроводжуються безсимптомним перебігом системного васкуліту, що підтверджується біохімічними ознаками дисфункції ендотелію та гемостазіологічними змінами. Обґрунтована необхідність подальшого вивчення проявів дисфункції судинного ендотелію при сифілісі.

Ключові слова: *ендотелій, судини, сифілітична інфекція, ендотеліальна дисфункція, оксид азоту.*

ВСТУП

Сучасний сифіліс характеризується подовженням інкубаційного періоду, превалюванням прихованих та рецидивних форм. Збільшення кількості прихованих форм сифілісу за останнє десятиріччя потребує удосконалення лікування. Відомо, що збудник сифілісу – *Treponema pallidum*, є гістіотропним патогеном, а переваскуліт – одним із основних гістопатологічних проявів всіх форм даного захворювання. Відмінною рисою генералізованих інфекцій є порушення системи гемостазу [7]. Встановлено, що збудник сифілісу має тропність до судинного ендотелію і здатний активувати ендотеліальний моношар, тим самим ініціюючи

розвиток специфічного васкуліту [13, 18]. Після стимуляції ендотелій трансформується в потужну прокоагулянтну поверхню, що відбувається за рахунок синтезу, виділення або залучення багатьох прокоагулянтних речовин [12].

Ушкодження ендотелію судин та оголення субендотеліальних шарів запускає реакції агрегації, згортання, викликає спазм судин, який може бути дуже сильним і не зникати навіть при денервації судин. За таких процесів припиняється утворення антиагрегантів. При короткочасній дії пошкоджуючих агентів ендотелій продовжує виконувати захисну функцію, перешкоджаючи крововтраті [2]. Але при тривалому пошкодженні ендотелію ендотелій починає

відігравати ключову роль у патогенезі ряду системних патологій (атеросклероз, гіпертонія, інсульти, інфаркти). Це пояснюється участю ендотелію в активізації ренин-ангіотензинової і симпатичної систем, переключенням активності ендотелію на синтез оксидантів, вазоконстрикторів, агрегантів та тромбогенних факторів, а також зменшенням деактивації ендотеліальних біологічно активних речовин [8].

Функція ендотелію модулюється комплексом взаємопов'язаних аутопаракринних факторів. В даний час велику увагу надають ендотеліозалежним механізмам регуляції судинного тонузу (зокрема NO) і структурі васкулярного мікрооточення [16]. У фізіологічних умовах переважає звільнення вазорелаксуючих факторів, які за рахунок низького рівня NO підтримують стан вазодилатації. При цьому NO надає різноманітний біологічний вплив, часто залежний від виду тканини.

Центральну роль у виникненні дисфункції ендотелію відіграє порушення біодоступності NO внаслідок недостатньої його продукції з L-аргініну, підвищеною деградації або погіршення дифузії до клітин-мішеней. Найбільше значення в виникненні дисфункції ендотелію надають внутріклітинному оксидативному стресу [14]. Нітрит-аніон є інтегральним показником стану функціонування системи оксиду азоту й сьогодні використовується як маркер системної ендотеліальної дисфункції [9, 17]. Оксид азоту виробляється різними типами клітин організму, має вільно-радикальні властивості й контролює багато біохімічних процесів і функцій. Він бере участь у регуляції тонузу гладких м'язів, судин, підтримки імунітету, нейромедації, пригнічує агрегацію тромбоцитів, опосередковує взаємодію останніх з ендотеліальними клітинами [1, 3.]. Синтез NO значно посилюється під дією мікроорганізмів, вірусів і інших чужорідних агентів. За останні роки накопичено багато даних, що свідчать про те, що вільні радикали, оксид азоту і його

похідні відіграють одну із провідних ролей у розвитку інфекційного процесу [15]. Отже, при різних патологічних станах, зокрема, і при сифілітичній інфекції з судинним ендотелієм відбуваються складні патофізіологічні та патогістологічні зміни. Вони можуть проявлятися неадекватною перфузією тканин, порушенням мікроциркуляції, зміною властивостей крові, прогресуючим порушенням обміну речовин на клітинному та молекулярному рівнях, розвитком патологічних змін в основних системах життєзабезпечення організму.

Враховуючи вищесказане, метою роботи стало вивчення стану системи гемостазу й функціонування ендотелію судин у хворих на приховані форми сифілісу, яке уточнить уявлення про патогенез специфічних васкулитів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Було проведено обстеження 37 пацієнтів з прихованими формами сифілісу, які перебували на стаціонарному лікуванні в відділенні інфекцій, що передаються статевим шляхом, ДУ «ІДВ НАМН» та 20 практично здорових донорів. Групи були порівняні між собою за статтю та віком. Матеріалом для дослідження була венозна кров із ліктьової вени, яку забирали вранці, натщесерце.

Серологічна діагностика сифілісу мала комплексний характер. Використовувались специфічні трепонемні діагностичні методи, які дозволяють при відсутності клінічних проявів інфекції встановити правильний етіологічний діагноз [5, 6]. Для отримання достовірних результатів та верифікації лабораторного діагнозу при пізніх формах сифілісу використовували в своїх дослідженнях наступні специфічні тести: реакція пасивної гемаглютинації (РПГА), імуноферментний метод (ІФА), реакція імунофлуоресценції (РІФ) та метод імуноблотінгу (ІБТ). Аналіз проводився із застосуванням тест-наборів: «ДіаПрофМед», «Рамінтек», «Вектор-Бест».

Всі зразки сироватки крові були обстежені на присутність специфічних імуноглобулінів до *Tr. pallidum* методами РПГА, ІФА, РІФ. Методом імуноблотінгу (ІБТ) – способу діагностики сифілісу, що включає використання розділених сенсibiliзованих рекомбінантних білків – аналогів антигенам до *Tr. pallidum* Tr15, Tr17, Tr41, Tr47, обстежені позитивні сироватки з трепонемними антитілами для визначення специфічності та уточнення діагнозу при пізніх формах сифілісу. Отримані дані щодо складу антитіл до окремих білків (антигенів) *Tr. pallidum*, показали, що в більшості випадків при пізніх формах сифілісу в організмі хворого знаходяться антитіла до 4 антигенів *Tr. pallidum* Tr15, Tr17, Tr41, Tr47.

Рівень продукції ендogenous оксиду азоту оцінювали за концентрацією нітрит-аніону в сироватці крові, який визначали за допомогою реакції з реактивом Гріса [10]. Для дослідження стану загортальної та антизгортальної системи крові використовували біохімічну коагулограму з визначен-

ням наступних показників: час згортання крові, протромбіновий час, протромбіновий індекс, активований частковий тромбoplastиновий час, рівень фібриногену, час фібринолізу.

Статистичну обробку результатів проводили за стандартними програмами. Статистичну достовірність оцінювали з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У хворих на прихований сифіліс визначали рівень продукції оксиду азоту у сироватці крові. Встановлено, що при розвитку прихованих форм сифілісу спостерігається зростання рівня продукції NO, що проявляється підвищенням вмісту нітрит-аніону в плазмі крові (табл. 1). У хворих на прихований сифіліс рівень метаболітів оксиду азоту вище за контрольні значення у 1,28 раз ($P < 0,05$), що вказує на наявність у пацієнтів системної ендотеліальної дисфункції.

Таблиця 1

Вміст нітрит-аніону в плазмі крові хворих на приховані форми сифілісу та практично здорових донорів ($M \pm m$)

Обстежені групи	Рівень оксиду азоту, мкмоль/л
Практично здорові донори, n = 20	11,96 ± 0,62
Хворі на приховані форми сифілісу, n=37	15,32 ± 1,14 p < 0.05

Примітка. * – $p < 0,05$ – відносно показників контрольної групи

Оксид азоту приймає активну участь в регуляції судинного тонуусу та циркуляції крові, системної та регіональної гемодинаміки. Тому підвищений вміст метаболітів оксиду азоту в крові пацієнтів з латентними формами сифілісу може виникати не тільки внаслідок запальних реакцій, але і розглядатись як реакція, спрямована на компенсацію або нормалізацію порушень гемодинаміки.

Відомо, що за допомогою трьох базисних коагуляційних тестів (тромбінового часу,

протромбінового часу і активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ) можна отримати інформацію про стан всіх основних ланок процесу згортання крові.

Показники протромбінового тесту – тесту на стан зовнішнього швидкого механізму гемокоагуляції, у пацієнтів не відрізнялися від показників контрольної групи. Аналогічна закономірність була виявлена і відносно показників протромбінового індексу (табл. 2).

**Показники коагулограми хворих на приховані форми сифілісу
і осіб контрольної групи (M ± m)**

Показник	Контрольна група (n=20)	Хворі на латентний сифіліс, до лікування (n=37)
Протромбиновий індекс, %	95,9±1,47	98,02±1,52
Активованій частковий тромбопластиновий час, с	25,18±0,87	29,65±0,90*
Тромбіновий час, с	16,22±0,79	18,65±0,93*
Фібриноген, г/л	3,1±0,1	3,4±0,1*

Примітка. * – $p < 0,05$ – відносно показників контрольної групи

При обстеженні хворих виявлено статистично значуще подовження АЧГЧ в порівнянні з групою контролю (табл. 2). Цей тест характеризує внутрішній шлях згортання крові. Дані зміни, можливо, можуть бути пояснені присутністю в крові хворих на сифіліс антифосфоліпідних антитіл, що вносять дисбаланс в систему коагуляційного гемостазу. Відомо, що антифосфоліпідні антитіла володіють потужною прокоагулянтною активністю, яка опосередковується їх здатністю впливати на ряд ключових механізмів, які беруть участь в регуляції згортання крові [11].

Як видно з таблиці 2, тромбіновий час в групі хворих до лікування було подовжено в порівнянні з групою контролю на 15,1% ($p < 0,05$). Багато авторів стверджують, що подовження тромбінового часу відбувається в присутності продуктів деградації фібрину, при ураженні печінки, наявності в крові антикоагулянту червоного вовчачка [4].

Рівень фібриногену в групі хворих був підвищений в порівнянні з контрольною групою, але не виходив за референтні межі нормальних величин. Дослідження стану фібринолітичної системи крові оцінювали за показником часу фібринолізу. У групі пацієнтів з прихованим сифілісом не спостерігалось достовірних відмінностей даного показника при порівнянні з контрольними

значеннями ($p > 0,05$). Також визначено, що час кровотечі за Лі-Вайтом у пацієнтів з прихованим сифілісом достовірно не відрізнявся від показників контрольної групи.

Таким чином, можливо, початковою ланкою в процесі порушення згортання крові у хворих на прихований сифіліс є напруга тромбоцитарно-судинної ланки гемостазу і придбання ендотеліальними клітинами прокоагулянтних властивостей під впливом імунної агресії.

ВИСНОВКИ

Порушення коагуляційного гемостазу у хворих на прихований сифіліс виражаються в подовженні активованого часткового тромбопластинового часу, тромбінового часу, підвищенні рівня фібриногену. Також відбувається підвищення нітрит-аніону, який є маркером системної ендотеліальної дисфункції. Таким чином можна стверджувати, що латентні форми сифілісу супроводжуються безсимптомним перебігом системного васкуліту, що підтверджується біохімічними ознаками дисфункції ендотелію та гемостазіологічними змінами. Контроль за маркерами системної запальної реакції і вивчення функціонального стану ендотелію у хворих прихованими формами сифілісу є актуальним.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ванин А. Ф. Оксид азота – регулятор клеточного метаболизма [Текст] / А. Ф. Ванин // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7, № 11. – С. 7-12.
2. Волошин П. В. Эндотелиальная дисфункция при цереброваскулярной патологии [Текст] / П. В. Волошин, В. А. Малахов, А. Н. Завгородняя – Харьков: 2006. – 92 с.
3. Вплив оксиду азоту на активацію апаптозу в імунокомпетентних клітинах крові при цукровому діабеті 1-го типу [Текст] / І. В. Бродяк, М. І. Барська, Т. С. Макаровська, Н. О. Сибірна // Фізіологічний журнал. – 2005. – Т.51, №4. – С.79-85.
4. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза [Текст] / В.В. Долгов, П.В. Свирина. — М.: Изд. Триада, 2005. — 227 с.
5. Наказ МОЗ України №204 від 22.12.1992 р. «Про організацію лабораторної діагностики сифілісу в Україні» [Текст].
6. Наказ МОЗ України №997 від 22.11.2013 р. «Сучасні підходи до лабораторних діагностики сифілісу» [Текст].
7. Корякина Л. Б. Эндотелий (функциональные особенности, дисфункция, способы коррекции) [Текст] / Л. Б. Корякина, Э. О. Андреева, Э. Э. Кузнецова // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – №4. – С.3-11.
8. Малая Л. Т. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы [Текст] / Л. Т. Малая, А. Н. Корж, Л. Б. Балковая – Харьков: Форсинг, 2000. – 432 с.
9. Манухина Е. Б. Стресс-лимитирующая система оксида азота / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев [Текст] // Российский физиологический журнал. – 2000. – Т. 86, № 10. – С. 1283-1292.
10. Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболизма оксида азота в сыворотке крови человека [Текст] / В. А. Метельская, Н. Г. Гумилева // Клини. лаб. диагностика. – 2015. – №6. – С.15-18.

REFERENCES

1. Vanin, A. F. (2001). Oksid azota – regulator kletocznego metabolizma [Nitric oxide - a regulator of cell metabolism]. *Soros Educational Journal*, 7 (11), 7-12.
2. Voloshin, P. V., Malahov, V. A., Zavgorodnyay, A. N. (2006) / Endotelial`naya disfunkciya pri cerebrovaskulyarnoj patologii [Endothelial dysfunction in cerebrovascular disease]. Kharkiv, Ukraine, 92.
3. Brodyak, I. V., Barska, M. I., Makarovska, T. S., Sibirna, N. O. (2005) Vplyv okcydu azotu na aktyvaciyu apaptozu v imunokompetentnuh klitunah krovi pru cukrovomu diabeti 1-go typu [Effect of nitric oxide on activation apaptozu in immunocompetent blood cells in diabetes mellitus type 1]. *Physiological journal*, 51 (4), 79-85.
4. Dolgov, V. V., Svirin, P. V. (2005) Laboratornaya diagnostika narushenij gemostaza [Laboratory diagnosis of disorders of hemostasis] Moskow, Russia: «Triada», 277.
5. Nakaz MOZ Ukrainy №204 vid 22.12.1992. «Pro organizaciju laboratornoj diagnostyky sifilisu v Ukraini» [Order of Ministry of Health of Ukraine №204 from 22.12.1992. “On organization of laboratory diagnosis of syphilis in Ukraine”].
6. Nakaz MOZ Ukrainy №997 vid 22.11.2013 «Suchasni pidhody do organizaciju laboratornoj diagnostyky sifilisu» [Order of Ministry of Health of Ukraine №997 from 22.11.2013 «On the organization of laboratory diagnosis of syphilis in Ukraine»].
7. Koryakina, L. B., Andreeva, E. O., Kuznecova, E. E. (2005) Endoteliy (funkcionalne osobennosti, disfunkciya, sposoby korrekcii) [The endothelium (functional features, dysfunction, correction methods)]. *Thrombosis, hemostasis and rheology*, 4, 3-11.
8. Malaya, L. T., Korzh, A. N., Balkovaya, L. B. (2000) Endotelialnaya disfunkciya pri patologii serdechno-sosudistoj sistemu [Endothelial dysfunction in the pathology of the cardiovascular system]. Kharkov, Ukraine.: Forsing, 432.
9. Manuhina, E. B., Malychev, I. Yu. (2000) Stress-limitiruyuschaya sistema oksida azota

11. Насонов Е. Л. Антифосфолипидный синдром [Текст]/ Е. Л. Насонов – Москва: Литтерра, 2004. – С.122-134.
12. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови: пер. с англ. [Текст]/ Ф. Дж. Шиффман. М.: Изд-во «Бином», 2007. – 448 с.
13. Юлдашев К. А., Асадуллаев М. М., Алиев Ф. Ф. Состояние церебральной гемодинамики по данным реоэнцефалографического обследования больных сифилисом [Текст]/ К. А. Юлдашев, М. М. Асадуллаев, Ф. Ф. Алиев // Вестник дерматологии и венерологии. – 1995. – № 3. – С. 54-55.
14. Anderssohn M. Assimetric dimethylarginineasa medistor of vascular dysfunction and a marker of cardiovascular disease and mortality: an intriguinginteraction with diabetes mellitus [Text]/ M. Anderssohn, E. Schwedhelm, N. Luneburgetal. // *Diab.Vasc. Dis. Res.* – 2010. – Vol. 7(2). – P. 105-118.
15. Coleman J. W. Nitric oxide in immunity and inflammation [Text]/ J. W. Coleman // *Int. Immunopharmacol.* – 2001. – Vol. 1, No. 8. – P. 1397–1406.
16. Davis G. E. Molecular control of capillary morfogenesis and maturation by recognition and remodeling of the extracellular matrix: functional roles of endothelial cells and pericytes in health and disease [Text]/ G. E. Davis, P. R. Norden, S. L. Bowers // *Connect Tissue Res.* – 2015 – Vol. 56, (5). – P. 392-402.
17. Pacher P. Nitric oxide and peroxyinitrite in health and disease [Text] / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 315-424.
18. Virulent *Treponema pallidum* promotes adhesion of leukocytes to human vascular endothelial cells [Text]/ B. S. Riley, N Oppenheimer-Marks, J. D. Radolf , M. V. Norgard // *Infect Immun.* – 1994. – №62(10). – P. 4622–4625.
- [Stress-limiting system of nitric oxide]. *Russian Journal of Physiology*, 86(10), 1283-1292.
10. Metelskaya, V.A., Gumiljeva, N.G. (2005) Skринing-metod opredeleniya urovnya metabolizma oksida azota v syvorotke krovi cheloveka [The screening method for determining the level of nitric oxide metabolism in human serum]. *Clinical Laboratory Diagnostics*, 6, 15-18.
11. Nasonov, E.L. (2004) Antifosfolipidnuy sindrom [Antiphospholipid syndrome]. Moscow, Russia: Littera, 122-134.
12. Sciffman, F. Dzh. (2007) Patofiziologiya krovi : per. s angl. [Pathophysiology of blood]. Moscow, Russia: Publishing house “Bean”, 448.
13. Yuldashev, K. A., Asadullaev, M. M., Aliev, F. F. (1995) Sostoyanie cerebralnoj gemodinamiki po dannum reoencefalograficheskogo obsledovaniya bolnuh sifilisom [Hemodynamics according rheoencephalography examination of patients with syphilis]. *Messenger of Dermatology and Venereology*, 3, 54-55.
14. Anderssohn, M., Schwedhelm, E., Luneburgetal, N. (2010.) Assimetric dimethylarginineasa medistor of vascular dysfunction and a marker of cardiovascular disease and mortality: an intriguinginteraction with diabetes mellitus. *Diab.Vasc. Dis. Res*, 7(2), 105-118.
15. Coleman, J. W. (2001) Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int. Immunopharmacol.*, 1(8), 1397–1406.
16. Davis, G. E., Norden, P. R., Bowers, S. L. (2015) Molecular control of capillary morfogenesis and maturation by recognition and remodeling of the extracellular matrix: functional roles of endothelial cells and pericytes in health and disease. *Connect Tissue Res.*, 56(5), 392-402.
17. Pacher, P., Beckman, J. S., Liaudet, L. (2007) Nitric oxide and peroxyinitrite in health and disease. *Physiol. Rev.*, 87, 315-424.
18. Riley, B .S., Oppenheimer-Marks, N., Radolf, J. D., Norgard, M. V. (1994) Virulent *Treponema pallidum* promotes adhesion of leukocytes to human vascular endothelial cells. *Infect Immun.*, 62(10), 4622-4625.

**НАРУШЕНИЯ СИСТЕМЫ
ГЕМОСТАЗА И
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ
ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У
ПАЦИЕНТОВ СО СКРЫТЫМИ
ФОРМАМИ СИФИЛИСА**

**Бондаренко Г.М.,
Никитенко И.Н.,
Семко Г.А.,
Кутова В.В.,
Зюбан И.В.**

*ГУ «Институт дерматологии
и венерологии НАМН Украины»*

Резюме. Проведено исследование состояния гемостаза и уровня продукции эндогенного оксида азота у 37 пациентов со скрытыми формами сифилиса и 20 практически здоровых доноров.

Показано, что скрытые формы сифилиса сопровождаются бессимптомным течением системного васкулита, что подтверждается биохимическими признаками дисфункции эндотелия и гемостазиологическими изменениями. Обоснована необходимость дальнейшего изучения проявлений дисфункции сосудистого эндотелия при сифилисе.

Ключевые слова: Эндотелий, сосуды, сифилитическая инфекция, эндотелиальная дисфункция, оксид азота.

Про авторів:

Бондаренко Гліб Михайлович – доктор мед. наук, професор, зав. відділом інфекцій, що передаються статевим шляхом, ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Нікітенко Інна Миколаївна – канд. мед. н., ст.н.сп. відділу інфекцій, що передаються статевим шляхом, ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Семко Галина Олександрівна – канд. біол.н., ст.н.сп. лабораторії біохімії ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Кутова Валентина Василівна – канд.мед.н., ст.н.сп., зав. лаб. серології ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Зюбан Ірина Володимирівна – лікар-фізіотерапевт ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

**BREACH OF
FUNCTIONING HEMOSTASIS
AND VASCULAR
ENDOTHELIUM IN PATIENTS
WITH LATENT FORMS OF
SYPHILIS**

**Bondarenko G.M.,
Nikitenko I.M.,
Semko G.O.,
Kutova V.V.,
Zyuban I.V.**

*SE «Institute of Dermatology and
Venereology of NAMS of Ukraine»*

Abstract. A study of the state of hemostasis and levels of endogenous nitric oxide production are undertaken in 37 patients with latent syphilis forms and 20 healthy donors.

It is shown that latent forms of syphilis are accompanied by asymptomatic systemic vasculitis, which is confirmed by biochemical signs of endothelial dysfunction and hemostasis changes. The necessity of further study the manifestations of vascular endothelial dysfunction in syphilis are proved.

Key words: endothelium, vessels, syphilitic infection, endothelial dysfunction, nitric oxide.