

на правах рукописи

Барыгина Лилия Анасовна

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ
ЗНАЧЕНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И УРОВНЯ
СЕРОТОНИНА У ДЕТЕЙ С ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ
СИНДРОМОМ**

3.1.21 – Педиатрия

Автореферат

диссертации на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук

Казань – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Макарова Тамара Петровна

Официальные оппоненты:

Настаушева Татьяна Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой госпитальной и поликлинической педиатрии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Чугунова Ольга Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии имени академика В.А. Таболина педиатрического факультета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2024 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.012.01 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте (<https://kazangmu.ru>) ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49Б).

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Г.Р. Хасанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Гемолитико-уремический синдром (ГУС) у детей представляет собой серьезную проблему в педиатрии и детской нефрологии, являясь одной из ведущих причин острого повреждения почек с потенциальной трансформацией в терминальную стадию хронической болезни почек (ХБП) в различные сроки от начала заболевания (Цыгин А.Н. и соавт., 2015; Эмирова Х.М. и соавт., 2016, Байко С.В. 2021, Гунькова Е.В., Вялкова А.А., 2021; Настаушева Т.Л., 2023).

Центральным патогенетическим механизмом ГУС является повреждение эндотелия, которое предшествует клиническим проявлениям заболевания (Canpolat N., 2015; Joseph A., 2020). Эндотелиальная дисфункция (ЭД) играет ключевую роль в многочисленных патофизиологических процессах (Saitoh S. et al., 2009; Gagliardini E. et al., 2009; Robitaille P. et al., 2012; Rebholz C.M. et al., 2017). Потеря эластичности сосудов, снижение их способности к дилатации, в значительной степени обусловлено ЭД, являющейся одним из патогенетических механизмов развития и прогрессирования ХБП. Степень выраженности дисфункции эндотелия связана с прогрессирующим снижением функции почек, развитием нефросклероза и является предиктором неблагоприятного прогноза (Forstermann U. et al., 2012; Collins A.J. et al., 2014; Мельникова Ю.С., 2016; Макарова Т.П., 2023).

Изменения в серотонинергической системе у детей с ГУС могут рассматриваться как один из факторов риска формирования и прогрессирования ХБП (Edefonti A. et al., 1985; Hamasaki Y. et al., 2013). Анализ литературных данных демонстрирует актуальную роль серотонина (5-НТ) и его тромбоцитарно-опосредованного влияния на фиброзно-воспалительные процессы в сосудах почек (Jones S. et al., 2001; Pawlak D. et al., 2017). Это дает основание для разработки новых диагностических подходов с изучением показателей серотонинергической системы с целью ранней диагностики и замедления прогрессирования повреждения почек, после перенесенного гемолитико-уремического синдрома у детей.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время особую роль в патогенезе ГУС отводят связи дисфункции эндотелия с изменениями в серотонинергической системе. Ответ сосудов на серотонин зависит от целостности эндотелиальной выстилки, если она нарушена, что наблюдается при ГУС, тромбоцитарный 5-НТ может достигать гладких мышц сосудов и влиять на вазоконстрикцию в месте повреждения сосудов. Однако, в литературе недостаточно данных о ранних маркерах развития ХБП у детей с ГУС и корреляции между избыточным накоплением 5-НТ в плазме крови через призму маркеров эндотелиальной дисфункции.

Наиболее частой причиной смерти пациентов с ХБП являются осложнения, обусловленные кардиоваскулярной патологией, что во многом определяет исходы лечения пациентов с ХБП после перенесенного ГУС (Mathews T.J. et al., 2008; Flinn J.T., 2012; Satoh M., 2012).

Таким образом, выявление дисфункции эндотелия и изменений в серотонинергической системе у пациентов с ГУС представляет большой интерес с целью разработки новых диагностических подходов, позволяющих оптимизировать раннюю диагностику формирования и прогрессирования ХБП. Комплексная оценка влияния дисфункции эндотелия и изменений серотонинергической системы на течение и исход ГУС, формирование кардиоваскулярных нарушений у этих детей позволит не только установить клинко-патогенетическое значение этих факторов, но и разработать критерии прогнозирования ХБП, что обуславливает актуальность данного исследования.

Цель исследования

Определение клинко-диагностического и прогностического значения эндотелиальной дисфункции, уровня серотонина и его метаболита у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Задачи исследования

1. Изучить показатели эндотелиальной дисфункции (эндотелин – 1 и оксид азота) при гемолитико-уремическом синдроме у детей.
2. Определить содержание серотонина в плазме крови и в тромбоцитах и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в плазме крови и суточной моче при гемолитико-уремическом синдроме у детей.
3. Изучить состояние сердечно-сосудистой системы у детей с гемолитико-уремическим синдромом.
4. Установить связь между показателями эндотелиальной дисфункции, уровнем серотонина, его метаболита с развитием и прогрессированием хронической болезни почек и структурно-функциональными изменениями сердца у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Научная новизна исследования

Впервые по результатам комплексного исследования маркеров эндотелиальной дисфункции и показателей серотонинергической системы у детей с ГУС установлено, что ЭД определяется в острой стадии заболевания, нарастает по мере формирования и прогрессирования стадий ХБП. Высокие значения эндотелина-1 (ЭТ-1) являются предикторами формирования и прогрессирования ХБП у детей с ГУС.

Выявлено, что острая стадия ГУС сопровождается повышением уровня серотонина и 5-ГИУК в плазме крови и снижением содержания 5-НТ в тромбоцитах. Показано, что отношение 5-ГИУК/5-НТ, отражающее активность метаболизма серотонина, значительно снижено у пациентов с гемолитико-уремическим синдромом. Сохраняющиеся высокие значения 5-НТ и 5-ГИУК в плазме крови, являются предикторами формирования и прогрессирования ХБП у детей с ГУС.

Получены новые данные о взаимосвязи показателей серотонинергической системы при ГУС у детей с маркерами эндотелиальной дисфункции, показателями артериального давления, скоростью клубочковой фильтрации (СКФ), креатинина, аланинаминотрансферазы (АЛТ). Выявлена статистически значимая прямая корреляция 5-НТ в плазме крови с систолическим

артериальным давлением (САД); 5-НТ в тромбоцитах со СКФ; соотношения 5-ГИУК/5-НТ с АЛТ и креатинином, обратная связь со СКФ. Выявлена статистически значимая обратная корреляция ЭТ-1 со СКФ, прямая корреляция с креатинином и АЛТ; прямая корреляция NO со СКФ.

Определены структурно-функциональные изменения сердца у детей с ГУС с исходом в ХБП в зависимости от стадии. Повышенные значения толщины задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ), массы миокарда левого желудочка (ММЛЖ) и индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), характеризующие гипертрофические процессы миокарда левого желудочка, выявлены уже на ранних стадиях развития ХБП.

Доказано как изолированное влияние серотонина в плазме крови на прогрессирование ХБП у детей с ГУС, так и в сочетании с другими показателями, такими как 5-НТ в тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и соотношения 5-ГИУК/5-НТ. Разработаны математические модели, позволяющие на ранних стадиях гемолитико-уремического синдрома прогнозировать развитие ХБП и структурно-функциональных изменений со стороны сердечно-сосудистой системы у детей с ГУС.

Теоретическая и практическая значимость работы

Доказана информативность показателей эндотелиальной дисфункции, уровня 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, его метаболита в плазме крови и моче в качестве дополнительных критериев прогноза развития ХБП и их ассоциации со структурно-функциональными изменениями сердечно-сосудистой системы у детей с ГУС.

Научно обоснована и показана целесообразность изучения эндотелиальной дисфункции и показателей серотонинергической системы у детей с ГУС, как факторов, способствующих формированию и прогрессированию ХБП.

Внедрение результатов исследования необходимо для более точной оценки риска развития, определения динамики прогрессирования ХБП у детей, развившейся на фоне гемолитико-уремического синдрома.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено на кафедре госпитальной педиатрии и одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Дизайн исследования включал три этапа. На первом этапе проведен ретроспективный анализ 89 историй болезней детей с ГУС в возрасте от 2 до 17 лет, госпитализированных в нефрологическое и реанимационное отделения ГАУЗ «ДРКБ МЗ РТ» за период с 2006 по 2019 годы. Проспективное исследование включало 31 ребенка с ГУС, госпитализированных с 2019 по 2022 годы.

На втором этапе проводилось комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование 43 детей-реконвалесцентов ГУС с исходом в ХБП. Проспективная группа пациентов была обследована в остром периоде заболевания, при выписке и через 1 год после перенесенного ГУС.

На третьем этапе проведены специальные методы исследования детям реконвалесцентам-ГУС с исходом в ХБП из ретроспективной группы исследуемых (n=43) и всем детям с ГУС проспективной группы (n=31). Контрольную группу составили 26 условно здоровых ребенка, сопоставимых по возрасту и полу.

Специальные методы исследования

Содержание эндотелина – 1 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) ELISA, наборы фирмы «Biomedica» (Австрия).

– О содержании оксида азота (NO) в сыворотке крови судили по уровню его стабильных метаболитов нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-). Для этого использовали набор Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Parameter Assay Kit фирмы RnD Systems (США) методом ИФА.

– Содержания 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

– Исследование 5-ГИУК в суточной моче методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией.

– Эхокардиографическое исследование проводилось по стандартной методике. Массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ) рассчитывали по формуле (Devereuh R.,1986). Индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) определяли, как отношение ММЛЖ к длине тела, возведенной в степень 2,7. За критерий гипертрофии миокарда левого желудочка принимали значения ИММЛЖ, превышающие 47,58 г/м^{2,7} для мальчиков и 44,38 г/м^{2,7} для девочек, что соответствует 99-му перцентилю распределения этого показателя (Леонтьева И.В., 2010).

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.6.5 (разработчик - ООО «Статтех», Россия). Результаты описательной статистики представлены в виде числа наблюдений (процент). Количественные параметры, имеющие нормальное распределение, представлены в виде средней арифметической величины и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Количественные параметры, имеющие отличное от нормального распределение, представлены в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей $Me (Q_1 - Q_3)$. Применялся t-критерий Стьюдента, коэффициенты корреляции Пирсона, Спирмена, R^2 Найджелкерка. Проведены: методы анализа ROC-кривых, логистической и линейной регрессии.

Положения, выносимые на защиту

1. Гемолитико-уремический синдром у детей сопровождается эндотелиальной дисфункцией и изменениями серотонинергической системы. Степень выраженности данных изменений зависит от стадии заболевания, исхода в хроническую болезнь почек и стадии хронической болезни почек.

2. Структурно-функциональные изменения сердца при хронической болезни почек, после перенесенного гемолитико-уремического у детей характеризуются увеличением массы миокарда левого желудочка и ее индексированного показателя. Степень выраженности данных изменений зависит от стадии хронической болезни почек.

3. Эндотелиальная дисфункция и изменения серотонинергической системы у детей с гемолитико-уремическим синдромом являются факторами,

влияющими на формирование и прогрессирование хронической болезни почек и структурно-функциональных изменений сердца при хронической болезни почек.

Степень достоверности и апробация результатов

Объективность, достоверность научных положений и выводов основана на достаточном количестве обследованных пациентов, использовании современных и адекватных методов исследования, корректной статистической обработке полученных данных в соответствии с критериями доказательной медицины.

Обладатель гранта Международного научного совета для молодых ученых ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (2021), гранта в рамках программы «Студенческий стартап» ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (2022). Победитель конкурса 50 лучших инновационных идей для Республики Татарстан (2021, 2023).

Основные положения работы апробированы и доложены на конгрессах и конференциях Всероссийского и международного уровней с 14 докладами, в том числе в 53rd ESPN ANNUAL MEETING (Amsterdam, 2021).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 5 статей в журналах из перечня рецензируемых научных изданий по научной специальности 3.1.21 – Педиатрия, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе 3 статьи – в журналах, индексируемых в базе данных Scopus, патент на изобретение и свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебно-диагностическую работу нефрологического отделения ГАУЗ «ДРКБ МЗ РТ» и учебный процесс кафедры госпитальной педиатрии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Разработан веб-сервис «ХБП.NET» (<http://hbp.net.ru/>),

позволяющий оценить риск развития хронической болезни почек у детей с гемолитико-уремическим синдромом.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации, осуществлялось на всех этапах работы: анкетирование, выкопировка данных из медицинской документации, сбор катamnестических сведений, полное клиническое обследование детей с ГУС, их проспективное наблюдение, взятие материала для лабораторной диагностики, статистическая обработка и анализ результатов исследования, оформление диссертации и публикаций по теме работы.

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 162 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной клинической характеристике пациентов и методам исследования, 4 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 257 источников литературы, в том числе 54 работы отечественных и 203 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 27 рисунками, содержит 28 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследований и их обсуждение

По данным ретроспективного анализа пациентов, перенесших ГУС, хроническая болезнь почек выявлена у 43 (48,4%) детей: I стадии – у 23 пациентов, III стадии – у 16 и V стадии – у 4 детей. По данным проспективного исследования из 31 ребенка с ГУС у 11 (35,4%) детей развилась ХБП: I стадии – у 4 детей, II стадии – у 5 и III стадии – у 2 пациентов.

В результате проведенных исследований было выявлено, что у всех детей ГУС сопровождался эндотелиальной дисфункцией. В проспективной группе пациентов, установлено статистически значимое повышение концентрации

ЭТ–1 в сыворотке крови в острый период заболевания и перед выпиской по сравнению с данными контрольной группы ($p < 0,001$). При обследовании через год высокие значения ЭТ–1 у детей реконвалесцентов-ГУС сохранялись, что свидетельствует о сохраняющемся нарушении вазомоторной функции сосудистого эндотелия у детей с ГУС. Результаты определения содержания NO в сыворотке крови, напротив, показали снижение концентрации NO в острую стадию заболевания и перед выпиской по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При обследовании детей реконвалесцентов-ГУС через 1 год выявлено повышение содержания NO в сыворотке крови.

При сравнении содержания ЭТ–1 и NO в сыворотке крови у детей с ГУС в проспективной группе исследуемых в зависимости от исхода в ХБП выявлены статистически значимые различия (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание ЭТ–1 и NO в сыворотке крови при наличии или отсутствии ХБП у детей с ГУС

Показатель	Группы пациентов	без ХБП (n = 20)	с ХБП (n = 11)	p
		M ± SD/95% ДИ		
эндотелин - 1 (пмоль/мл)	острый п-д	0,65 ± 0,14 (0,47 – 0,82)	1,11 ± 0,34 (0,26 – 1,97)	0,03*
	при выписке	0,32 ± 0,07 (0,16 – 0,48)	0,42 ± 0,09 (0,36 – 0,54)	0,56
	через 1 год	0,17 (0,15 – 0,25)	0,30 (0,27 – 0,35)	0,01*
оксид азота (мкмоль/л)	острый п-д	17,1 ± 6,0 (10,8 – 23,4)	34,2 ± 10,9 (16,9 – 51,6)	0,01*
	при выписке	19,8 ± 4,3 (15,2 – 24,4)	29,6 ± 8,9 (7,4 – 51,9)	0,055
	через 1 год	26,2 ± 7,7 (18,1 – 34,2)	44,7 ± 14,5 (35,5 – 53,9)	0,01*
NO/ЭТ-1	острый п-д	21 ± 10 (5 – 37)	31 ± 19 (7 – 54)	0,37
	при выписке	59 ± 25 (54 – 85)	78 ± 20 (59 – 81)	0,35
	через 1 год	90 ± 26 (26 – 153)	158 ± 54 (123 – 192)	0,05

Примечание: * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Результаты исследований показали, что у детей с ГУС с формированием ХБП значения ЭТ-1 и NO в сыворотке крови были статистически значимо выше по сравнению с группой детей без формирования ХБП. Установлено, что дисфункция эндотелия прогрессирует с ранних стадий ХБП с постепенным нарастанием по мере прогрессирования стадий ХБП. При определении содержания ЭТ-1 в сыворотке крови у пациентов с ХБП в зависимости от стадии, выявлено статистически значимое повышение его содержания во всех исследуемых группах по сравнению с контрольной группой. Максимальные значения ЭТ-1 отмечены у пациентов с пятой стадией ХБП. В результате определения содержания NO в сыворотке крови у детей с ХБП на фоне ГУС установлено постепенное снижение как концентрации NO, так и соотношения NO/ЭТ-1 по мере прогрессирования ХБП с минимальными значениями в V стадии (рисунок 1).

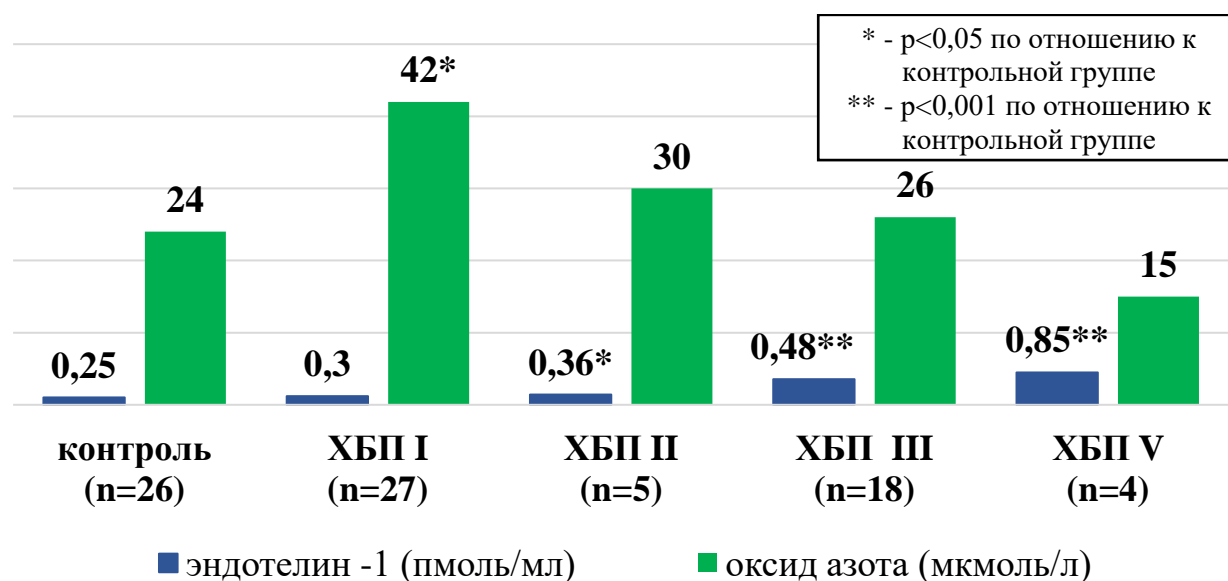


Рисунок 1 – Содержание ЭТ-1, NO в сыворотке крови у детей с ГУС в зависимости от стадии ХБП

В качестве одного из маркеров неблагоприятного прогноза ГУС в виде выхода на ХБП, можно рассматривать сохраняющиеся высокие уровни ЭТ-1 в сыворотке крови. Проведена оценка прогностической значимости содержания ЭТ-1 в сыворотке крови у детей с ГУС для определения вероятности исхода в ХБП с помощью ROC-анализа. Площадь под ROC-кривой составила $0,858 \pm 0,08$ с 95% ДИ 0,702–1,000. Полученная модель была статистически значимой

($p=0,01$). Риск развития ХБП прогнозировался при значении ЭТ–1 в сыворотке крови более или равном 0,240 пмоль/мл. Чувствительность 94,1% и специфичность 66,7%.

Высокие концентрации ЭТ–1 в сыворотке крови могут быть кофактором снижения почечного клиренса, что подтверждается наличием обратной корреляции между ЭТ–1 и СКФ у детей с ГУС ($\rho=-0,501$, $p=0,002$), и наличием прямой корреляции между NO и СКФ ($\rho=0,293$, $p=0,048$). Полученные данные наличия связи ЭТ–1 и NO в сыворотке крови с показателями тяжести нарушения функции почек подтверждают развитие и прогрессирование ХБП у детей с сохраняющимися признаками эндотелиальной дисфункции.

Одним из медиаторов, высвобождаемых при активации тромбоцитов у детей с ГУС является 5-НТ. Результаты по определению серотонина и его метаболита в сыворотке крови в проспективной группе больных показали статистически значимое повышение концентрации 5-НТ и его метаболита 5-ГИУК в плазме крови у всех детей с ГУС в острой стадии заболевания, перед выпиской, а также сохраняющиеся высокие значения изучаемых показателей через год после перенесенного ГУС по сравнению с контрольной группой ($p\leq 0,001$). Анализ содержания 5-НТ в тромбоцитах, напротив, выявил статистически значимое его снижение у всех пациентов с ГУС во всех изучаемых периодах заболевания относительно контрольной группы ($p\leq 0,001$), при этом самые низкие значения наблюдались у пациентов в остром периоде заболевания.

Высокое содержание серотонина в плазме крови, у пациентов с ГУС, вероятно, связано с продолжающейся активацией тромбоцитов, что может отражать повышенное высвобождение и провоспалительное действие 5-НТ на почки (Lood С., 2015; Mindubayeva F., 2020). Повышение основного метаболита серотонина – 5-ГИУК в плазме крови у пациентов с ГУС свидетельствует о его активности и может быть следствием усиленного распада высоких концентраций 5-НТ под действием моноаминоксидазы с одной стороны, и снижением СКФ с другой. Нарушение метаболизма 5-НТ, возможно, связано с повреждением эндотелиальной выстилки, которая наблюдается у детей с ГУС (Małyszko J. S. et al., 2000; Adaway J. E., 2016; Rigamonti D., Simonetti G.D., 2016).

С целью определения прогностической значимости изучаемых показателей был проведен анализ уровня 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах у детей с ГУС, на фоне которого сформировалась ХБП (таблица 2).

Таблица 2 – Концентрация серотонина в плазме крови и тромбоцитах в зависимости от исхода в ХБП в проспективной группе детей с ГУС

Показатель	Группы пациентов	без ХБП Me (Q ₁ – Q ₃)/ M ± SD/95% ДИ	n	с ХБП Me (Q ₁ – Q ₃)/ M ± SD/95% ДИ	n	p
5-НТ в плазме (пмоль/мл)	острый п-д	70 (21 – 131)	20	571 (498 – 766)	11	0,02*
	при выписке	422 (177 – 496)	20	779 (559 – 1262)	11	0,03*
	через 1 год	445 (65 – 974)	20	1619 (1052 – 2579)	11	0,02*
5-НТ в тромбоцитах (пмоль/мл)	острый п-д	4,4±1,4 (2,6 – 6,1)	20	8,8±2,2 (6,1 – 11,6)	11	0,005*
	при выписке	34,4 (7,1 – 62,2)	20	7,3 (6,8 – 12,1)	11	0,41
	через 1 год	149 (112 – 173)	20	23 (19 – 30)	11	0,02*
5-ГИУК в плазме (пмоль/мл)	острый п-д	612 (487 – 2202)	20	213 (81 – 523)	11	0,11
	при выписке	96 (50 – 141)	20	120 (87 – 326)	11	0,57
	через 1 год	49 (35 – 62)	20	50 (35 – 65)	11	0,89
5-ГИУК/ 5-НТ	острый п-д	15,8 (8,2 – 146)	20	1,9 (0,2 – 5,0)	11	0,03*
	при выписке	0,24 (0,16 – 0,92)	20	0,02 (0,01 – 0,04)	11	0,01*
	через 1 год	0,22 (0,08 – 0,47)	20	0,03 (0,01 – 0,05)	11	0,01*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы (p<0,05)

Статистически значимое повышение содержания 5-НТ в плазме крови у детей с ГУС, на фоне которого сформировалась ХБП, было выявлено как в острый период повреждения почек, так и через год после ГУС, по сравнению с группой пациентов без формирования ХБП. Напротив, содержание тромбоцитарного 5-НТ снижалось во всех изучаемых периодах заболевания в обеих группах. Однако, необходимо отметить, что у детей с ГУС с исходом в ХБП как при острой стадии заболевания, так и через 1 год после перенесенного ГУС наблюдались очень низкие значения 5-НТ в тромбоцитах по сравнению с группой детей без ХБП. В свою очередь, значимых различий при сравнении

показателей содержания 5-ГИУК в плазме крови у детей с ГУС, в зависимости от стадии заболевания, не установлено.

При определении содержания уровня 5-НТ и 5-ГИУК в плазме крови у пациентов с ХБП в зависимости от стадии, выявлено статистически значимое повышение их концентраций во всех исследуемых группах по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о продолжающейся активации тромбоцитов, повышенном высвобождении и нарушении захвата серотонина. По мере прогрессирования стадий ХБП отмечалось повышение их уровней в плазме крови. Сохраняющиеся высокие уровни 5-НТ в плазме крови можно рассматривать в качестве дополнительного маркера прогрессирования ХБП у детей после перенесенного ГУС (рисунок 2).

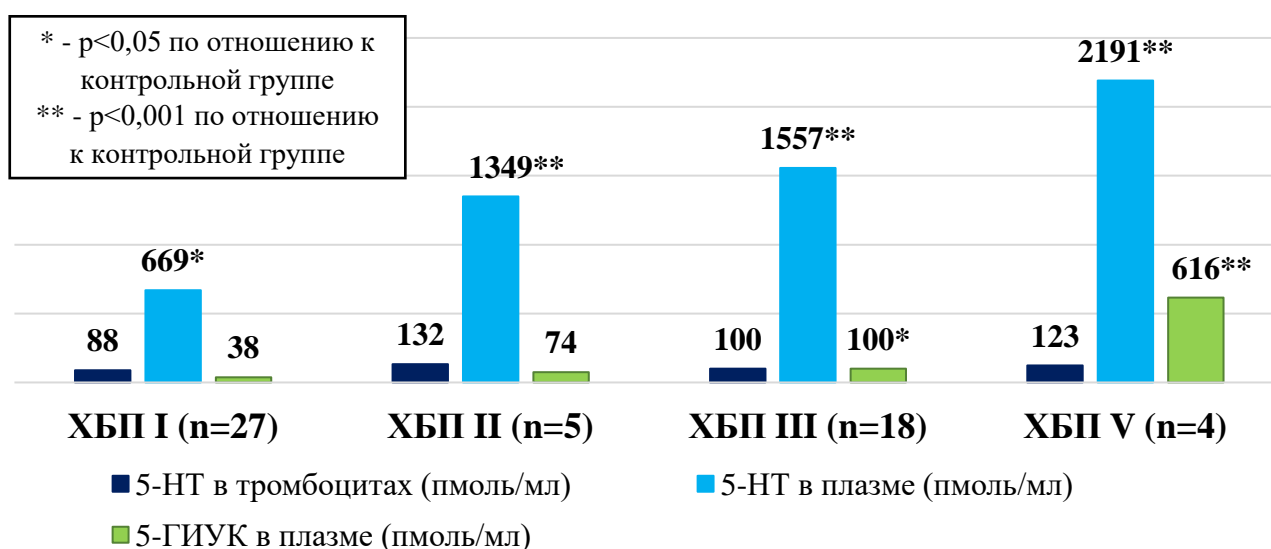


Рисунок 2 – Содержание серотонина в плазме крови и тромбоцитах, метаболита серотонина – 5-ГИУК в плазме крови у пациентов с различными стадиями ХБП

Таким образом, проведенные исследования показали, что у детей с ХБП на фоне ГУС наблюдаются изменения в серотонинергической системе в виде снижения концентрации 5-НТ в тромбоцитах и повышения 5-НТ и 5-ГИУК в плазме крови, начиная с I стадии развития ХБП. Степень выраженности данных изменений зависит от стадии ХБП, с максимальной реализацией при ХБП V стадии.

С целью оценки клинического значения изменений серотонинергической системы у пациентов с ГУС был проведен корреляционный анализ взаимосвязи

указанных показателей со СКФ. Были выявлены статистически значимая прямая корреляция СКФ и 5-НТ в тромбоцитах ($\rho=0,55$, $p<0,05$), обратная корреляция между СКФ с 5-ГИУК и 5-ГИУК/5-НТ в плазме крови ($\rho=-0,61$ и $\rho=-0,49$, соответственно, $p<0,001$).

Использование метода парной линейной регрессии позволило более точно описать зависимость СКФ у детей с ГУС от 5-ГИУК в плазме крови. При увеличении содержания 5-ГИУК в плазме крови на 1 пмоль/мл следует ожидать уменьшение СКФ на $0,013 \text{ мл/мин}/1,73\text{м}^2$. Полученная модель объясняет 13,8% наблюдаемой дисперсии СКФ у детей с ГУС.

Была разработана прогностическая модель методом бинарной логистической регрессии с целью определения вероятности развития ХБП у детей с ГУС в зависимости от содержания 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови и их соотношения (патент RU2797633C1). Наблюдаемая зависимость описывается уравнением (1):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%, \quad (1)$$

где: P – вероятность развития ХБП, e - математическая константа, приблизительно равная 2,71828, $z = 0,005 - 0,002 \times 5\text{-НТ в плазме} + 0,002 \times 5\text{-ГИУК}/5\text{-НТ в плазме} - 0,036 \times 5\text{-ГИУК в плазме} + 0,058 \times 5\text{НТ в тромбоцитах} + 0,108 \times 5\text{-НТ в плазме}/5\text{-НТ в тромбоцитах}$.

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,015$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 74,7% наблюдаемой дисперсии показателя развития ХБП у детей с ГУС.

В нашей работе рассмотрена возможность прогнозирования прогрессирования ХБП при последующем диспансерном наблюдении детей после перенесенного ГУС с помощью неинвазивной методики определения концентрации 5-ГИУК в суточной моче (рисунок 3).

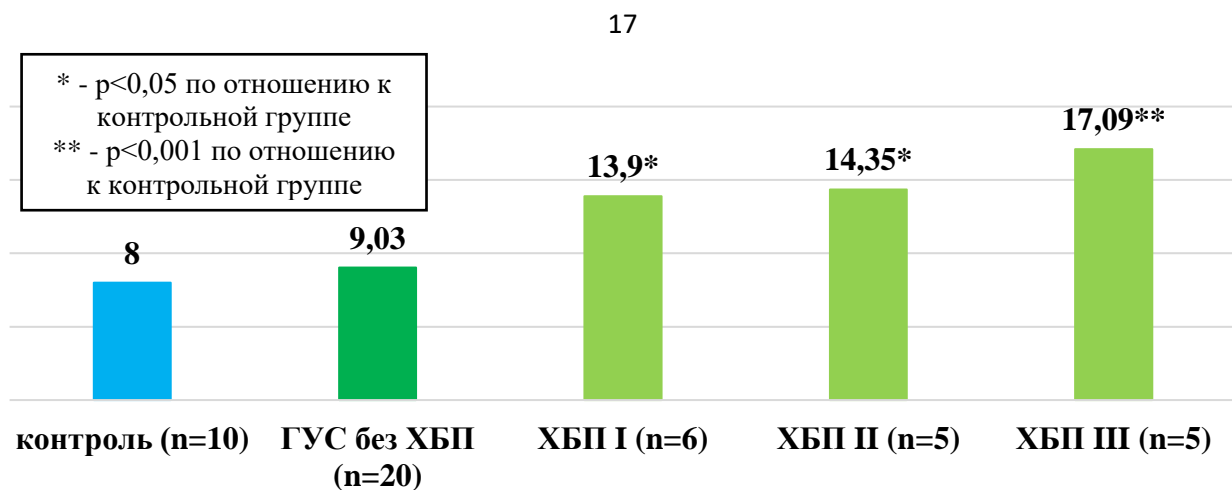


Рисунок 3 – Содержание 5-ГИУК в моче у пациентов с различными стадиями ХБП (Me, мг/сут)

Результаты исследования концентрации 5-ГИУК в суточной моче у всех обследованных детей после перенесенного ГУС составили $9,03 \pm 2,9$ мг/сут. Максимальные значения 5-ГИУК в суточной моче были зарегистрированы у пациентов с ХБП III стадии 17,09 мг/сут. Таким образом, можно предположить, что сохраняющиеся высокие значения 5-ГИУК в суточной моче у детей с ГУС свидетельствуют об усиленном распаде 5-НТ и являются одним из показателей нарушения клубочковой фильтрации. Содержание 5-ГИУК в суточной моче можно использовать в качестве как косвенного показателя уровня 5-НТ в плазме крови, так и снижения СКФ (Sebekova K. et al., 1989; Lee H. S. et al., 2021).

При проведении корреляционного анализа между показателями эндотелиальной дисфункции и изменениями серотонинергической системы у детей с ГУС установлены статистически значимые корреляции. Выявлена обратная корреляция между содержанием 5-НТ в тромбоцитах и содержанием ЭТ-1 в сыворотке крови у детей с ГУС ($\rho = -0,54$, $p = 0,05$), напротив с содержанием 5-ГИУК в плазме крови установлена статистически значимая прямая связь ($\rho = 0,64$, $p < 0,001$).

В результате корреляционного анализа содержания NO в сыворотке крови у детей с ГУС и содержанием 5-ГИУК и отношением 5-ГИУК/5-НТ в плазме крови установлена статистически значимая обратная связь ($\rho = -0,47$ и $\rho = -0,35$, соответственно, $p < 0,05$).

Поражение сердечно-сосудистой системы играет важную роль как в исходе при ГУС, так и при формировании и прогрессировании ХБП у детей.

Оценка риска развития кардиоваскулярной патологии у детей с ГУС с исходом в ХБП является важным этапом не только для выявления потенциальных факторов риска, которые можно изменить, но и для оценки эффективности лечения, направленного на снижение этой вероятности. Определены структурно-функциональные изменения сердца у детей с ГУС с исходом в ХБП в зависимости от стадии. При сравнении показателей, позволяющих оценить наличие гипертрофии отделов сердца, выявлены статистически значимые различия. Отмечалось увеличение показателей размеров левого предсердия, ИММЛЖ, ТЗСЛЖ, межжелудочковой перегородки (МЖП) ($p < 0,05$) и индекса относительной толщины стенки ($p = 0,06$). По мере прогрессирования стадий ХБП наблюдалось увеличение толщины сердечных стенок и размеров полостей сердца.

При индивидуальной оценке ИММЛЖ учитывая возрастную группу пациентов с ГУС, установлено, что ИММЛЖ соответствующий 99-му перцентилю распределения имели 4,3% с ХБП I стадии, 13,04% с ХБП III стадии и 17,4% детей с ХБП V стадии, что свидетельствует о гипертрофии миокарда левого желудочка у детей.

Кроме того, была выделена группа пациентов с погранично высокими показателями ИММЛЖ, значения которых соответствуют 95-му перцентилю распределения. В эту группу вошли 8,7% детей с ХБП I стадии, 21,7% с ХБП II стадии, 34,8% детей с ХБП III стадии. Эти пациенты относятся к группе высокого риска развития гипертрофии миокарда левого желудочка.

Проведен корреляционный анализ влияния эндотелиальной дисфункции и изменений в серотонинергической системе на структурно-функциональные изменения сердечно-сосудистой системы. Было выявлено, что содержание ЭТ-1 в сыворотке крови имело статистически значимую прямую корреляцию с ИММЛЖ ($\rho = 0,65$, $p = 0,05$). Установлена статистически значимая прямая корреляция 5-НТ в плазме крови с МЖП ($\rho = 0,73$, $p < 0,05$) и ТЗСЛЖ ($\rho = 0,65$, $p < 0,05$), ИММЛЖ ($\rho = 0,95$, $p < 0,05$) и обратная связь показателя 5-ГИУК/5-НТ в плазме крови с ИММЛЖ. Высокие значения 5-НТ в плазме крови были характерны для детей после перенесенного ГУС с артериальной гипертензией ($p = 0,05$). В результате корреляционного анализа связи содержания 5-НТ в плазме крови при

выписке и показателей САД и ДАД у детей через 1 год после перенесенного ГУС, была установлена статистически значимая прямая связь ($\rho=0,88$ и $\rho=0,77$, соответственно ($p<0,05$)).

Была разработана прогностическая модель для определения риска развития поражения сердечно-сосудистой системы у детей с ГУС в зависимости от содержания 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах в острой стадии, длительности анурической стадии ОПП методом бинарной логистической регрессии. Число наблюдений составило 31. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением (2):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%, \quad (2)$$

$$z = -1,942 - 0,014X_{5\text{-НТ в Тр}} - 0,001X_{5\text{-НТ в плазме}} + 0,135X_{\text{анурия}}$$

где P – вероятность поражения сердечно-сосудистой системы, $X_{5\text{-НТ в Тр}}$ – 5-НТ в тромбоцитах (пмоль/мл), $X_{5\text{-НТ в плазме}}$ – 5-НТ в плазме крови (пмоль/мл), $X_{\text{анурия}}$ – длительность анурии (дней).

Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,01$). Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,599. Развитие структурно-функциональных изменений со стороны сердечно-сосудистой системы у детей с ГУС прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность 90,0% и специфичность 83,3%.

Полученные данные свидетельствуют о существенных структурно-функциональных изменениях сердца при формировании и прогрессировании ХБП у детей с ГУС. Изменения в серотонинергической системе и ЭД оказывают комплексное воздействие на развитие патологических изменений миокарда, как за счет стимуляции кардиомиоцитарных и фибробластных серотониновых рецепторов, так и за счет их участия в развитии артериальной гипертензии.

Таким образом, результаты проведенного комплексного исследования эндотелиальной дисфункции и изменений серотонинергической системы у детей с ГУС показали существенные изменения всех показателей, как в остром периоде заболевания, через год после перенесенного ГУС, так и у детей, у которых развилась ХБП. Необходимо отметить, что выраженность изучаемых показателей зависит от периода заболевания, развития и стадии ХБП и

усугубляется при прогрессировании от I к V стадии ХБП. Эндотелиальная дисфункция и изменения серотонинергической системы у детей с ГУС оказывают существенное влияние на функцию почек, состояние сердечно-сосудистой системы у детей с ГУС и на формирование и прогрессирование ХБП.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что гемолитико-уремический синдром сопровождается эндотелиальной дисфункцией, характеризующийся статистически значимым повышением в сыворотке крови содержания эндотелина-1 до 0,94 (0,66 – 1,21) пмоль/мл, снижением оксида азота до 20 (18 – 38) мкмоль/л и снижением соотношения NO/ЭТ-1 до 23 (15 – 25) в активную стадию заболевания по сравнению с контрольной группой. При формировании и прогрессировании ХБП выявлены сохраняющиеся высокие значения эндотелина-1 и снижение содержания оксида азота в сыворотке крови ($p < 0,05$) с максимальной реализацией в V стадии ХБП.

2. Изменения в серотонинергической системе у детей с ГУС в активной стадии заболевания носят разнонаправленный характер: повышение содержания серотонина до 109 (42 – 230) пмоль/мл и его метаболита – 5-ГИУК в плазме крови до 587 (208 – 1816) пмоль/мл отмечалось на фоне снижения 5-НТ в тромбоцитах до 3 (3 – 6) пмоль/мл по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,001$). Формирование ХБП сопровождалось нарастанием 5-НТ в плазме крови с незначительным увеличением 5-НТ в тромбоцитах и высокими значениями метаболита серотонина – 5-ГИУК в суточной моче по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

3. Эндотелиальная дисфункция и изменения серотонинергической системы являются кофакторами в формировании и прогрессировании ХБП. Повышение уровня ЭТ-1 и снижение уровня 5-ГИУК/5-НТ имеют диагностическую значимость в формировании и прогрессировании ХБП у детей с ГУС. Разработаны прогностические модели развития хронической болезни почек у детей-реконвалесцентов ГУС в зависимости от содержания ЭТ-1 в сыворотке крови, 5-НТ в тромбоцитах, 5-НТ и 5-ГИУК в плазме крови и их соотношения.

4. Определены структурно-функциональные изменения сердца у пациентов с гемолитико-уремическим синдромом. Повышенные значения ММЛЖ, ИММЛЖ, характеризующие развитие гипертрофии миокарда левого желудочка, выявлены уже на ранних стадиях ХБП после перенесенного ГУС. ИММЛЖ, соответствующий 99-му перцентилю распределения, имели 4,3% с ХБП I стадии, 13,04% с ХБП III стадии и 17,4% детей с ХБП V стадии, что свидетельствует о гипертрофии миокарда левого желудочка у детей. Выделена группа высокого риска по развитию гипертрофии миокарда левого желудочка: ИММЛЖ, соответствующий 95-му перцентилю распределения, выявлен у 8,7% детей с ХБП I стадии, 21,7% с ХБП II стадии, 34,8% детей с ХБП III стадии.

5. Выявлено сочетанное влияние на риск развития хронической болезни почек и вероятность развития структурно-функциональных изменений сердца у детей с ГУС таких факторов как эндотелиальная дисфункция, содержание 5-НТ в плазме крови и тромбоцитах, содержание 5-ГИУК в плазме крови и их соотношения, длительность анурии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для более точного прогнозирования риска развития ХБП у детей с ГУС рекомендовано комплексное обследование пациентов с ГУС с оценкой содержания серотонина в плазме крови, тромбоцитах, 5-ГИУК в плазме крови, с подсчетом риска развития ХБП при помощи формулы (патент на изобретение №2797633 «Способ прогнозирования развития риска и прогрессирования хронической болезни почек у детей с типичной формой гемолитико-уремического синдрома») в остром периоде и ежегодно после перенесенного ГУС.

2. Всем детям после перенесенного ГУС рекомендован неинвазивный метод прогноза риска прогрессирования ХБП с определением уровня 5-ГИУК в суточной моче ежегодно.

3. С целью выявления структурно-функциональных изменений сердца необходимо проводить динамическое эхокардиографическое обследование пациентов после перенесенного ГУС с частотой не реже 1 раза в год с определением индекса массы миокарда левого желудочка. При выявлении

ИММЛЖ более 95 перцентиля следует выделять группу высокого риска по развитию гипертрофии миокарда левого желудочка.

4. Для практического здравоохранения предложен сервис «ХБП.NET» (<http://hbp.net.ru/>) для оценки вероятности риска развития ХБП у детей перенесших ГУС на основании многофакторного анализа полученных данных как клинического, так и лабораторного исследования с использованием алгоритмов глубокого машинного обучения на основе искусственных нейронных сетей.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективным является дальнейшее изучение и других маркеров риска развития и прогрессирования ХБП, а также факторов оказывающих влияние на развитие сердечно-сосудистых осложнений после перенесенного ГУС, с целью предупреждения развития осложнения и прогрессирования ХБП. Дальнейшего изучения требует и установление причинно-следственной связи эндотелиальной дисфункции, изменений со стороны серотонинергической системы и структурно-функциональных изменений сердечно-сосудистой системы, включая изменения не только со стороны сердца, но и сосудов.

Автор выражает благодарность д.б.н., профессору Нигматуллиной Разине Рамазановне за оказанную помощь в проведении исследований серотонинергической системы у детей с ГУС и в обсуждении полученных результатов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1. Семейный атипичный гемолитико-уремический синдром: история одной семьи / Т.П. Макарова, Х.М. Эмирова, Л.А. Давлиева [и др.] // Нефрология и диализ. – 2019. – Т.21, № 3. – С. 370-377.**
2. Гемолитико-уремический синдром у детей / Л.А. Давлиева, Т.П. Макарова, Д.Р. Хуснутдинова, Ю.С. Мельникова // Сборник тезисов VII Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы». – Казань, 2020. – С.119-120.

- 3. Клинико-диагностическое значение дисфункции эндотелия и уровня серотонина в крови при гемолитико-уремическом синдроме у детей / Т.П. Макарова, Р.Р. Нигматуллина, Л.А. Давлиева, Ю.С. Мельникова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2021. – Т.66, № 5. – С. 157-162.**
4. Макарова, Т.П. Шига-токсин ассоциированный гемолитико-уремический синдром у детей / Т.П. Макарова, Л.А. Давлиева, Ю.С. Мельникова // Материалы XIII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: текущие и будущие угрозы». – Москва, 2021. – С.102-103.
5. Макарова, Т.П. Клинико-лабораторные показатели гемолитико-уремического синдрома у детей / Т.П. Макарова, Л.А. Давлиева, Ю.С. Мельникова // Материалы V Национального конгресса с международным участием «Здоровые дети — будущее страны». – Санкт-Петербург, 2021. – С.237.
- 6. Показатели уровня серотонина, катехоламинов и их метаболитов при гемолитико-уремическом синдроме у детей / Т.П. Макарова, Р.Р. Нигматуллина, Л.А. Давлиева [и др.] // Практическая медицина. – 2022. – Т.22, №2. – С. 92-97.**
- 7. Уровни серотонина и его метаболита при гемолитико-уремическом синдроме у детей / Т.П. Макарова, Р.Р. Нигматуллина, Л.А. Давлиева [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2022. – Т.67, №5. – С. 177-183.**
8. Давлиева, Л.А. Клинико-диагностическое и прогностическое значение уровня серотонина и его метаболита у детей с гемолитико-уремическим синдромом / Л.А. Давлиева // Сборник тезисов докладов участников седьмого Всероссийского молодежного научного форума «Наука будущего – наука молодых». – Новосибирск, 2022. – С.108.
9. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2022685730. Приложение для мобильных устройств «ХБП.НЕТ» : №2022685018 : заявл. 15.12.2022 : опубл. 27.12.2022 / Л.А. Давлиева, Д.А. Комышев; заявитель, патентобладатель ООО «ХБП.НЕТ».
- 10. Показатели эндотелиальной дисфункции у детей с гемолитико-уремическим синдромом / Т.П. Макарова, Л.А. Давлиева, Ю.С.**

Мельникова, Д.Р. Хуснутдинова // Фарматека. – 2023. – Т.30, №1-2. – С. 221-225.

11. Патент № 2797633 С1. Способ прогнозирования развития риска и прогрессирования хронической болезни почек у детей с типичной формой гемолитико-уремического синдрома : № 2022125893 : заявл. 04.10.2022 : опубл. 07.06.2023 / Т.П. Макарова, Р.Р. Нигматуллина, Л.А. Давлиева, Ю.С. Мельникова; заявитель, патентобладатель ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота

5-НТ – серотонин

ГУС – гемолитико-уремический синдром

ДИ – доверительный интервал

ИММЛЖ – индекс массы миокарда левого желудочка

ИФА – иммуноферментный анализ

МЖП – межжелудочковая перегородка

ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка

ОПП – острое повреждение почек

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ТЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка

ХБП – хроническая болезнь почек

ЭД – эндотелиальная дисфункция

ЭТ-1 – эндотелин-1

NO – оксид азота