

Физиологические исследования

УДК 575:616.61-002.151-003.39:616.9]-07

А.А. Байгильдина

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ VE-КАДГЕРИНА ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Предполагается, что осложнения вирусных геморрагических лихорадок связаны с повышением проницаемости эндотелия и его дезинтеграцией. Целью работы явилось исследование динамики VE-кадгерина и циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в крови больных ГЛПС, ассоциации полиморфизма локуса гена VE-кадгерина в зависимости от периода и тяжести ее течения для оценки их роли в развитии болезни. Обследованы 137 больных ГЛПС в возрасте 35,0 (25,0; 47,0) лет (среднетяжелая – 61, тяжелая неосложненная – 43, тяжелая осложненная форма – 33 больных). В молекулярно-генетическом исследовании использованы образцы ДНК 319 больных ГЛПС в возрасте 41,2 (26,7; 51,3) лет (среднетяжелая – 175, тяжелая неосложненная – 95, тяжелая осложненная форма – 49 больных) и 171 образец ДНК серонегативного донора. Концентрацию VE-кадгерина определяли методом ИФА тест-системой компании «Bender MedSystems» (Австрия), содержание ЦЭК – по методу J. Hladovec, полиморфизм локуса *rs1049970* гена VE-кадгерина – методами ПЦР синтеза ДНК и ПДРФ. Результаты обработали методами непараметрической и параметрической статистики. Концентрация VE-кадгерина статистически значимо снижается, количество ЦЭК увеличивается при всех формах тяжести ГЛПС, между ними наблюдается сильная отрицательная корреляция. Частота встречаемости генотипа **T/*T* статистически значимо высока при тяжелой форме болезни. При среднетяжелой форме ГЛПС снижение концентрации VE-кадгерина в крови и усиленная десквамация эндотелия связаны с адаптивным снижением экспрессии адгезивной молекулы. При тяжелой форме болезни деэндотелизация ассоциирована с миссенс-мутацией с.1550T>C гена VE-кадгерина.

Ключевые слова: VE-кадгерин, циркулирующие эндотелиоциты, ген VE-кадгерина, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) представляет собой острое хантавирусное природно-очаговое инфекционное заболевание, характеризующееся системным поражением мелких сосудов, геморрагическим диатезом, гемодинамическими расстройствами и поражением почек с развитием острой почечной недостаточности [1]. Наиболее высокие показатели ежегодной заболеваемости ГЛПС отмечаются в Уральском, Поволжском и Центральном федеральных округах, в том числе и в Республике Башкортостан, определяя 60-90 % всей заболеваемости ГЛПС по России. Патогенез болезни к настоящему времени изучен далеко не полностью, что объяснимо, с одной стороны, весьма сложным механизмом развития заболевания, с другой, – отсутствием экспериментальной модели для его изучения.

Главной мишенью для хантавируса – возбудителя ГЛПС, как и для всех вирусных гемолихорадок, является эндотелий [2; 3] и одной из реакций, развивающихся на уровне сосудистой интимы в ответ на вирусную инвазию, является реакция воспаления, которая реализуется путем изменения продукции эндотелиоцитами адгезивных молекул [4; 5]. Адгезивным белком, экспрессируемым исключительно эндотелиоцитами, является VE-кадгерин. Он обеспечивает образование межэндотелиоцитарных соединений, участвует в регуляции барьерной функции эндотелия, трансэндотелиальной миграции лейкоцитов и ангиогенезе [6-9]. Его внутриклеточный домен взаимодействует с β -катенином и далее через α -катенин – с цитоскелетом, формируя прочный каркас для эндотелия [10]. Ген VE-кадгерина (CDH5) расположен на длинном плече хромосомы 16 в положении 16q22.1 и входит в кластер генов кадгеринов (CDH1, CDH3, CDH5, CDH8, 603008, CDH11, 600023), локализованных в регионе 16q21-q22.1. Он состоит из 12 экзонов, из них 1-й и некоторые участки 2-го и 12-го экзонов не транслируются.

По мнению ряда исследователей, такие осложнения вирусных геморрагических лихорадок, как инфекционно-токсический шок и ДВС-синдром, напрямую связаны с повышением проницаемости эндотелия и ее дезинтеграцией [11-13]. Однако в доступной литературе отсутствуют данные о динамике уровня этой адгезивной молекулы в крови больных ГЛПС различной степени тяжести и о вкладе генетических факторов в изменение количества экспрессированных на эндотелиоцитах молекул

VE-кадгерина при заболеваниях, вызванных патогенными хантавирусами. В этой связи целью данной работы явилось исследование зависимости концентрации VE-кадгерина и циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭК) в крови больных ГЛПС от тяжести заболевания и анализ ассоциации полиморфного локуса *rs1049970* гена VE-кадгерина тяжестью течения болезни.

Материалы и методы исследования

Работа одобрена экспертным советом по биомедицинской этике по клиническим дисциплинам ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России. В группу динамического исследования концентрации VE-кадгерина и уровня ЦЭК в крови вовлечены 137 больных с серологически подтвержденным диагнозом ГЛПС (114 мужчин и 23 женщины) в возрасте 35,0 (25,0; 47,0) лет, в том числе со среднетяжелой формой – 61 (44,5 %), тяжелой без осложнений – 43 (31,4 %), тяжелой с осложнениями (ДВС-синдром, инфекционно-токсический шок, острая почечная недостаточность и др.) – 33 больных (24,1 %). От каждого больного было получено информированное согласие. Группу контроля составили 44 практически здоровых добровольца (37 мужчин и 7 женщин) в возрасте 32,2 (28,4; 36,1) лет. В молекулярно-генетическом исследовании использованы образцы ДНК 319 больных с серологически подтвержденным диагнозом ГЛПС различной формы тяжести в возрасте 41,2 (26,7; 51,3) лет, в том числе со среднетяжелой формой – 175 (54,9 %), тяжелой без осложнений – 95 (29,8 %), тяжелой с осложнениями – 49 больных (15,3 %) и 171 образец ДНК серонегативных доноров. Концентрацию VE-кадгерина в сыворотке крови определяли методом ИФА с использованием тест-системы «human VE-cadherin ELISA» компании «Bender MedSystems» (Австрия). Количество ЦЭК в периферической крови определяли методом J. Hladovec [14]. ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Полиморфный локус гена VE-кадгерина исследовали методами ПЦР синтеза ДНК и полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. Для анализа выбрали полиморфный локус *rs1049970* гена VE-кадгерина (VE-cadherin**T1550C*), расположенного в экзоне 10 (с.1550T>C), однонуклеотидная замена тимина на цитозин, в 1550-м положении которого формирует генотип **T/T* (миссенс-мутация с.1550T>C) [15]. Результаты обработаны с использованием методов непараметрической и параметрической статистики и соответствующего программного обеспечения Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004), SPSS 13.0 for Windows, «RxC» на основе алгоритма точного двустороннего критерия Фишера Р (F2). Для оценки количественных показателей использовали методы непараметрической статистики: определяли медиану, 25- и 75-й процентиля и данные представили в виде Me (25; 75). Статистическую значимость межгрупповых различий средних величин оценивали по критерию U Манна-Уитни с поправкой False Discovery Rate (FDR) для множественных сравнений. Взаимосвязь двух количественных признаков оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену. Оценку влияния периода и формы тяжести на изменение концентрации VE-кадгерина в крови больных ГЛПС различной степени тяжести проводили с использованием многомерного дисперсионного анализа MANOVA. Оценку зависимости между переменными проводили методом однофакторного линейного регрессионного анализа. Правильность распределения частот генотипов и аллелей определяли соответствием равновесию Харди-Вайнберга. Доверительные интервалы частот аллелей и генотипов рассчитывали на основе точной формулы с использованием F-распределения. При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в группах больных и в контроле использовали критерий хи-квадрат (χ^2) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йетса на непрерывность. Если частота хотя бы в одной ячейке таблицы была меньше или равна 5, применяли точный критерий Фишера. Силу ассоциаций с тяжестью течения ГЛПС оценивали в значениях показателя отношения шансов (Odds Ratio, OR). Проверку статистических гипотез проводили при критическом уровне значимости $p=0,05$.

Результаты и их обсуждение

ГЛПС сопровождается коррелирующим с тяжестью болезни снижением уровня VE-кадгерина в крови больных от периода лихорадки к периоду восстановленного диуреза, и чем тяжелее протекает заболевание, тем снижение более выражено (табл. 1). Особенностью среднетяжелой формы является статистически значимо высокая концентрация VE-кадгерина в лихорадочный период ГЛПС (в 1, 3 раза выше контроля). Тяжелая неосложненная форма заболевания начинается, напротив, со статистически значимо низкой ее концентрации в крови – в 2,15 раз ниже контроля и, несмотря на тенденцию

к нормализации к периодам олигурии и полиурии, при восстановлении диуреза практически возвращается к уровню, имевшему место в лихорадочный период. При осложненной форме наблюдается сходная со среднетяжелой формой динамика изменения уровня VE-кадгерина: плавный спад уровня от периода лихорадки к периоду восстановления диуреза, причем в отличие от среднетяжелой и тяжелой неосложненной форм осложненное течение ГЛПС характеризуется статистически значимо низким ее уровнем в крови на всем протяжении болезни. Нормализации содержания адгезивной молекулы в крови больных на фоне базисной лекарственной терапии к периоду клинического выздоровления при всех формах ГЛПС не происходит.

Таблица 1

**Концентрация VE-кадгерина в сыворотке крови больных ГЛПС
на фоне базисной лекарственной терапии, нг/мл ($p < 0,02$ с поправкой FDR)**

Период заболевания	Форма заболевания		
	среднетяжелая	тяжелая без осложнений	тяжелая с осложнениями
Лихорадки	1,36 [1,19; 2,36], $p=0,05$	0,54 [0,50; 0,59] $p=0,016$	0,69 [0,64; 0,87] $p=0,01$
Олигурии	1,01 [0,64; 1,49] $p=0,6$	1,11 [0,81; 1,77] $p=0,8$	0,82 [0,57; 3,00] $p=0,06$
Полиурии	0,96 [0,48; 1,55] $p=0,05$	0,91 [0,80; 1,39] $p=0,3$	0,55 [0,50; 0,67] $p=0,01$
Восстановленного диуреза	0,66 [0,23; 0,66] $p=0,017$	0,43 [0,30; 0,67] $p=0,016$	0,34 [0,14; 0,69] $p=0,009$
Контроль: 1,07 [1,025; 1,08]			

Дисперсионный анализ влияния периода и формы течения ГЛПС на изменение уровня VE-кадгерина в крови больных в динамике заболевания показал, что оно статистически незначимо зависит от периода, но статистически значимо зависит от формы течения болезни (табл. 2). Выявлена статистически значимая зависимость изменения содержания адгезивной молекулы в крови больных от варианта течения заболевания.

Таблица 2

**Дисперсионный анализ влияния периода и формы тяжести ГЛПС на концентрацию
VE-кадгерина в сыворотке крови больных на фоне базисной лекарственной терапии**

Показатели	Сумма квадратов, SS	Степени свободы, df	Дисперсия, MS	Критерий Фишера, F	p
Влияние периода	1,815	3	0,605	1,520	0,217
Влияние формы тяжести	3,488	2	1,744	4,382	0,016
Зависимость изменения концентрации VE-кадгерина в динамике ГЛПС от формы ее тяжести	7,417	6	1,236	3,106	0,009

Незначительное повышение продукции VE-кадгерина в лихорадочный период среднетяжелой формы, возможно, является ответной реакцией макроорганизма при незначительной вирусной нагрузке и преследует цель уменьшения проницаемости эндотелия для чужеродного агента – хантавируса. При выраженной вирусной агрессии, проявляющейся в тяжелой форме ГЛПС, более эффективным способом противодействия возбудителю заболевания, вероятнее всего, оказывается его эндоцитоз, либо снижение продукции. Это ведет к ослаблению межклеточных контактов в интиме сосудов, одним из следствий чего является повышение проницаемости сосудов, что необходимо для успешной экстравазации моноцитов.

Наши результаты о снижении продукции VE-кадгерина при ГЛПС согласуются с данными, полученными *in vitro* при инфицировании культуры эндотелиоцитов возбудителями других типов геморрагических лихорадок. Заражение этих клеток хантавирусами серотипов *Hantaan* и *South American Andes* инициирует усиленный эндоцитоз кадгерина, тогда как непатогенный серотип *Tula* подобную реакцию не вызывает.

[16]. Супернатант, полученный из макрофагов, предварительно инфицированных вирусом *Марбург*, вызывает реорганизацию комплекса VE-кадгерин – катенин [17]. Длительная экспозиция эндотелиоцитов вирусом денге в клеточной культуре ведет к потере ими способности экспрессировать VE-кадгерин [18], в то время как заражение культуры клеток возбудителем конго-крымской геморрагической лихорадки не сопровождается изменением его продукции [19]. Следует заметить, что инфицирование эндотелиоцитов *in vitro* не позволяет моделировать степень вирусной нагрузки в условиях макроорганизма и в особенности его метаболического ответа, а также провести динамическое наблюдение за характером реакции этих клеток в течение достаточно длительного времени, исчисляемого неделями.

VE-кадгерину принадлежит ведущая роль в обеспечении адгезии между клетками интимы сосудов с формированием целостной эндотелиальной выстилки. Уменьшение его концентрации в крови больных ГЛПС как результат интернализации в эндотелиоциты, либо снижения продукции может отражаться в их повышенной склонности к десквамации. Для проверки этого предположения проведено исследование содержания в крови больных ГЛПС ЦЭК в зависимости от периода и тяжести течения заболевания. Во всех исследованных группах больных обнаруживается статистически значимое повышение содержания ЦЭК в периферической крови по сравнению с контролем, за исключением периода восстановленного диуреза при осложненной форме (табл. 3).

Таблица 3

Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в периферической крови больных ГЛПС различной степени тяжести на фоне базисной лекарственной терапии, $\text{Ч10}^4/\text{л}$ ($p < 0,046$ с поправкой FDR)

Период заболевания	Форма заболевания		
	среднетяжелая	тяжелая без осложнений	тяжелая с осложнениями
Лихорадки	7,5 [4,0; 8,5] $p=0,02$	6,5 [6,0; 7,5] $p=0,001$	12,0 [8,0; 12,0] $p=0,0001$
Олигурии	11,5 [8,3; 14,3] $p=0,0003$	13,0 [8,0; 15,0] $p=0,002$	10,5 [8,0; 12,5] $p=0,00007$
Полиурии	14,0 [9,5; 17,5] $p=0,00004$	19,5 [17,0; 20,0] $p=0,0002$	22,8 [22,5; 23,0] $p=0,00002$
Восстановленного диуреза	9,8 [6,5; 15,8] $p=0,0005$	11,5 [10,0; 13,0] $p=0,001$	4,5 [3,0; 10,0] $p=0,8$
Контроль: 4,0 [3,0; 6,0]			

Статистически значимая нормализация уровня ЦЭК в период восстановленного диуреза осложненной формы болезни является, видимо, результатом того, что слушивание основной части поврежденных эндотелиоцитов произошло в более ранние сроки болезни.

Дисперсионный анализ влияния периода и формы течения ГЛПС на изменение содержания ЦЭК в периферической крови больных в динамике заболевания показал, что оно не зависит от варианта течения болезни, но статистически значимо зависит от периода болезни и сочетанного воздействия обоих факторов (табл. 4).

Таблица 4

Дисперсионный анализ влияния периода и формы тяжести ГЛПС на количество ЦЭК в периферической крови больных на фоне базисной лекарственной терапии

Показатель	Сумма квадратов, SS	Степени свободы, df	Дисперсия, MS	Критерий Фишера, F	p
Влияние периода	671,95	3	223,98	5,561	0,002
Влияние формы тяжести	226,32	2	113,16	2,809	0,067
Зависимость изменения количества ЦЭК в динамике ГЛПС от формы ее тяжести	1528,92	6	254,82	6,326	0,000

По данным корреляционного анализа, между уровнями VE-кадгерина и ЦЭК в динамике болезни при всех формах ее течения имеет место тесная обратная корреляционная зависимость, за исключением периода лихорадки при его среднетяжелой форме, характеризующейся прямой умеренной взаимосвязью (табл. 5).

Таблица 5

Корреляционная зависимость между содержанием ЦЭК и концентрацией VE-кадгерина в крови больных ГЛПС различной формы тяжести по Спирмену, R

Период заболевания	Форма заболевания		
	среднетяжелая	тяжелая без осложнений	тяжелая с осложнениями
Лихорадочный	+0,5; p=0,3	-0,7; p=0,05	-0,8; p=0,004
Олигурический	-0,8; p=0,007	-0,7; p=0,08	-0,8; p=0,008
Полиурический	-0,8; p=0,006	-0,8; p=0,007	-0,9; p=0,001
Восстановленного диуреза	-0,9; p=0,004	-0,9; p=0,001	-0,7; p=0,06

Таким образом, можно полагать, что одной из возможных причин усиленного слущивания эндотелиоцитов в динамике ГЛПС является снижение количества экспонированных на их поверхности молекул VE-кадгерина с последующим уменьшением степени связности между ними. С другой стороны, при тяжелом течении болезни синтез VE-кадгерина может тормозиться из-за снижения количества функционально активных ЭК в силу их структурного повреждения.

По данным регрессионного анализа, зависимость количества ЦЭК от уровня VE-кадгерина в крови больных со среднетяжелой формой ГЛПС в периоды олигурии ($R=-0,8$; $p=0,007$), полиурии ($R=-0,8$; $p=0,006$) и восстановления диуреза ($R=-0,9$; $p=0,004$) носит линейный характер с равномерным падением функции и они связаны между собой соответственно уравнениями: $[ЦЭК] = 14,9243 - 2,5886 \times [VE-кадгерин]$, $[ЦЭК] = 33,3505 - 27,882 \times [VE-кадгерин]$ и $[ЦЭК] = 37,3292 - 21,8765 \times [VE-кадгерин]$ (рис. 1 а, б, в).

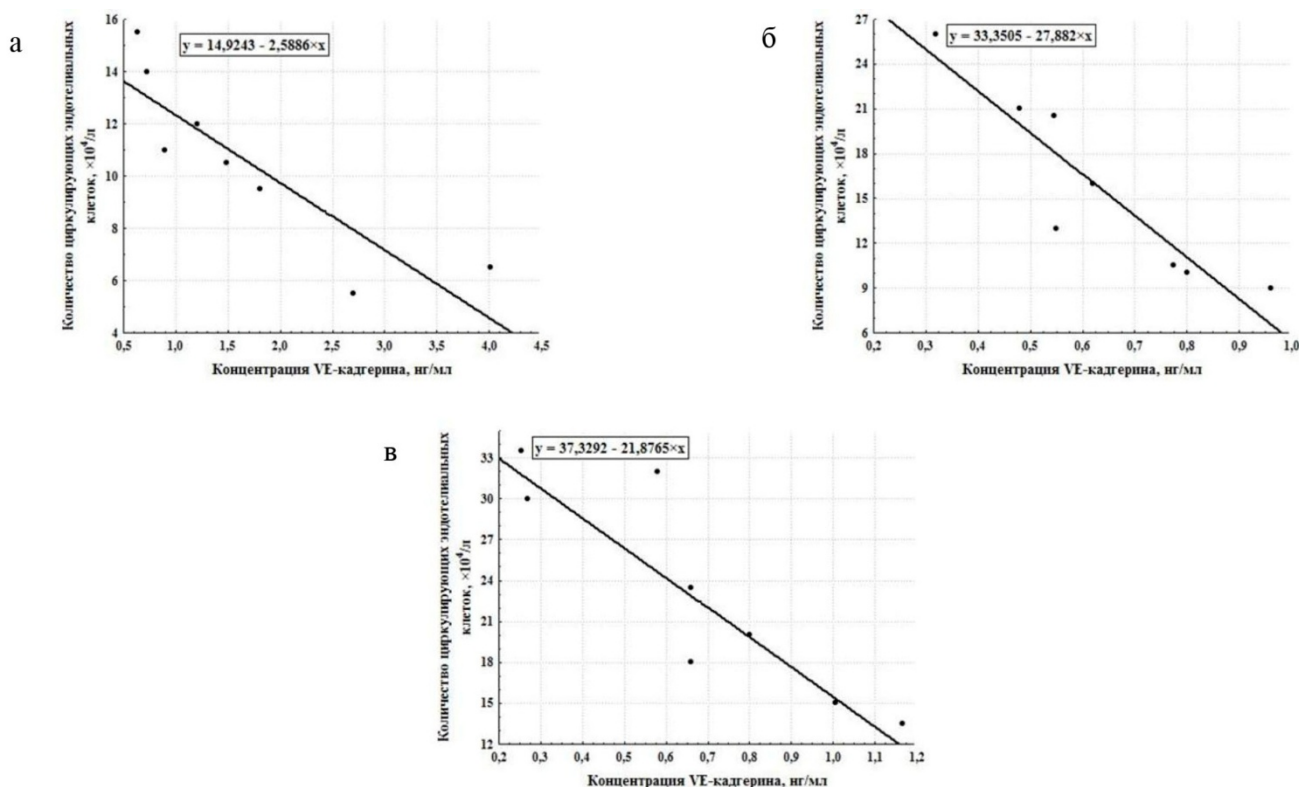


Рис. 1. Регрессионная зависимость содержания ЦЭК от концентрации VE-кадгерина в крови больных в периоды олигурии (а), полиурии (б) и восстановленного диуреза (в) при среднетяжелой форме ГЛПС

В периоды полиурии ($R=-0,8$; $p=0,007$) и восстановленного диуреза ($R=-0,9$; $p=0,007$) неосложненной формы ГЛПС диаграммы рассеяния и графики регрессии также имеют линейный характер с равномерным падением функции. Эти показатели связаны между собой соответственно уравнениями: $[ЦЭК] = 27,0004 - 11,9959 \times [VE\text{-кадгерин}]$ и $[ЦЭК] = 19,8797 - 9,3771 \times [VE\text{-кадгерин}]$ (рис. 2 а, б).

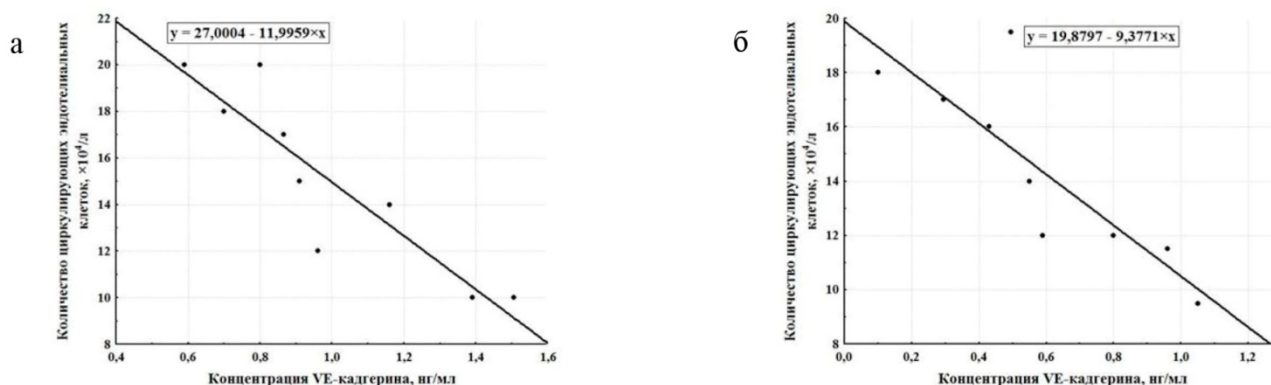


Рис. 2. Регрессионная зависимость содержания ЦЭК от концентрации VE-кадгерина в крови больных в периоды полиурии (а) и восстановленного диуреза (б) при тяжелой форме ГЛПС без осложнений

В паре ЦЭК/VE-кадгерин в период лихорадки, олигурии и полиурии при тяжелом осложненном течении заболевания также обнаруживается сильная отрицательная корреляция ($R=-0,8$; $p=0,004$; $R=-0,8$; $p=0,008$ и $R=-0,9$; $p=0,001$ соответственно). Регрессионный анализ показал линейную зависимость между ними и эти показатели связаны между собой уравнениями соответственно: $[ЦЭК] = 35,558 - 29,8279 \times [VE\text{-кадгерин}]$, $[ЦЭК] = 41,0861 - 35,9859 \times [VE\text{-кадгерин}]$ и $[ЦЭК] = 38,4661 - 31,087 \times [VE\text{-кадгерин}]$ (рис. 3 а, б, в).

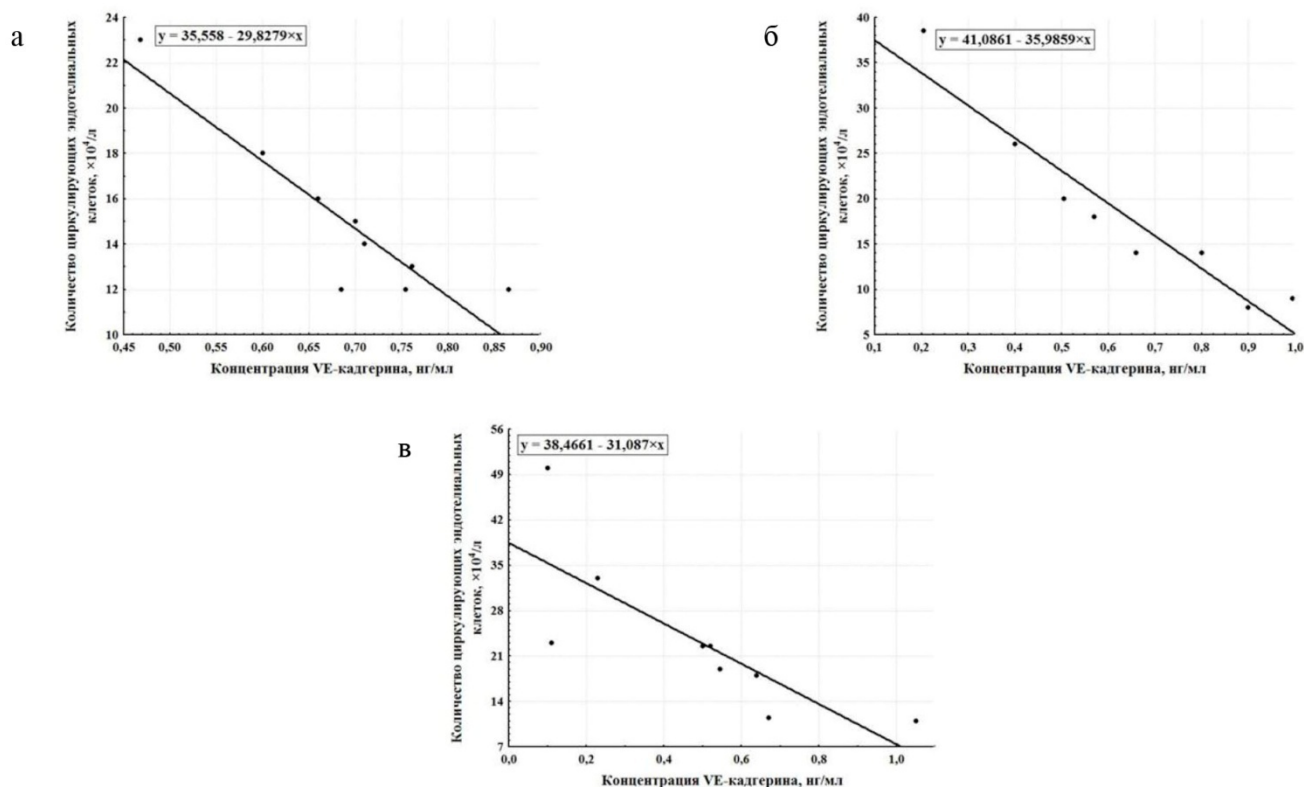


Рис. 3. Регрессионная зависимость содержания ЦЭК от концентрации VE-кадгерина в крови больных в периоды лихорадки (а), олигурии (б) и полиурии (в) при тяжелой форме ГЛПС с осложнениями

Выявление факта достаточно низкого уровня VE-кадгерина при тяжелой форме ГЛПС явилось побудительной причиной для исследования ассоциации полиморфного локуса *rs1049970* гена VE-кадгерина с тяжестью течения болезни. В изученных выборках распределение частот генотипов соответствует распределению Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Анализ распределения частот генотипов этого полиморфного локуса выявил преобладание в исследуемых выборках больных и серонегативных доноров гомозиготного генотипа $*C/*C$ и частота его встречаемости у больных и здоровых приблизительно одинакова (табл. 6).

Гетерозиготный генотип $*C/*T$ при всех формах течения ГЛПС встречается реже, чем генотип $*C/*C$, частота его встречаемости тем ниже, чем тяжелее протекает заболевание. Самым редким является гомозиготный генотип $*T/*T$. Различия в распределении частот генотипов и аллелей этого полиморфного ДНК-локуса между больными со среднетяжелой формой ГЛПС и серонегативными донорами статистически незначимы. В группе больных с тяжелым течением ГЛПС наблюдается статистически значимое увеличение частоты минорного генотипа $*T/*T$: при тяжелой неосложненной форме она составляет 7,4 %, что статистически значимо выше значений для контрольной группы, в то время как при среднетяжелой форме ее встречаемость всего 1,1 %, а у больных с тяжелым осложненным течением ГЛПС он встречается еще чаще – в 11,1 % случаев, что также статистически значимо отличается как от группы серонегативных доноров, так и от выборки больных со среднетяжелой формой. Следовательно, носительство гомозиготного генотипа $*T/*T$ в полиморфном локусе *rs1049970* гена VE-кадгерина сопряжено с риском развития тяжелой формы ГЛПС.

Встречаемость аллеля $*C$ больных с различной степенью тяжести ГЛПС и контрольной группой выше, чем аллеля $*T$ и частота их встречаемости в группах больных различной степени тяжести и серонегативных доноров одинакова.

Таблица 6

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса *rs1049970* гена VE-кадгерина у больных ГЛПС различной формы тяжести и серонегативных доноров

Форма заболевания		Генотипы			Аллели	
		$*C/*C$	$*C/*T$	$*T/*T$	$*C$	$*T$
средне-тяжелая	n	92	81	2	265	85
	$p_i \pm Sp$, CI95%	$52,57 \pm 3,77$ (44,90–60,16)	$46,29 \pm 3,77$ (38,73–53,97)	$1,14 \pm 0,80$ (0,14–4,07)	$75,71 \pm 2,29$ (70,87–80,12)	$24,29 \pm 2,29$ (19,88–29,13)
	$\chi^2(p)$, df	0,07 (0,96), 2			0,01 (0,93), 1	
тяжелая без осложнений	n	50	38	7	138	52
	$p_i \pm Sp$, CI%	$52,63 \pm 5,12$ (42,12–62,97)	$40,00 \pm 5,03$ (30,08–50,56)	$7,37 \pm 2,68$ (2,89–14,79)	$72,63 \pm 3,23$ (65,71–78,84)	$27,37 \pm 3,23$ (21,16–34,29)
	$\chi^2(p)$, df	6,4 (0,04), 2			0,65 (0,42), 1	
	$\chi^2(p_1)$, df	7,71 (0,02), 2			0,47 (0,50), 1	
тяжелая с осложнениями	N	24	16	5	64	26
	$p_i \pm Sp$, CI95%	$53,33 \pm 7,44$ (37,87–68,34)	$35,56 \pm 7,14$ (21,87–51,22)	$11,11 \pm 4,68$ (3,71–24,05)	$71,11 \pm 4,78$ (60,60–80,18)	$28,89 \pm 4,78$ (19,75–39,46)
	$\chi^2(p)$, df	10,4 (0,006), 2			0,74 (0,38), 1	
	$\chi^2(p_1)$, df	12,1 (0,002), 2			0,58 (0,45), 1	
	$\chi^2(p_2)$, df	0,66 (0,72), 2			0,01 (0,90), 1	
серонегативные доноры	n	84	70	2	238	74
	$p_i \pm Sp$, CI95%	$53,85 \pm 3,99$ (45,69–61,85)	$44,87 \pm 3,98$ (36,91–53,03)	$1,28 \pm 0,90$ (0,16–4,55)	$76,28 \pm 2,41$ (71,16–80,89)	$23,72 \pm 2,41$ (19,11–28,84)

Примечание. n – абсолютное число генотипов (аллелей); p_i – частота; Sp – ошибка p_i ; CI95 % – 95 % доверительный интервал (p_i), p – значимость различий с группой серонегативных доноров; p_1 – значимость различий со среднетяжелой формой, p_2 – значимость различий с тяжелой формой без осложнений; df – степени свободы

Таким образом, наличие у больных с тяжелой формой ГЛПС генотипа $*T/*T$ гена VE-кадгерина, низкий уровень продукции адгезивной молекулы, выраженная десквамация эндотелия [20]

и сильная отрицательная корреляция между уровнями ЦЭК и этой адгезивной молекулой, позволяют предположить, что у данной группы больных имеется предрасположенность к облегченному слущиванию эндотелиоцитов как к результату синтеза кадгерина с измененной первичной структурой из-за наличия миссенс-мутации *c.1550T>C* в его гене.

Заключение

ГЛПС характеризуется развитием адгезионной формы дисрегуляции метаболической активности эндотелия, которая является важным элементом синдрома системной воспалительной реакции и проявляется, в частности, в торможении синтеза/экспонирования VE-кадгерина. При среднетяжелой форме болезни такой метаболический ответ носит, вероятнее всего, адаптивный характер для уменьшения степени связности между эндотелиоцитами для обеспечения успешной трансэндотелиальной миграции моноцитов в экстравазальное пространство. При тяжелой форме ГЛПС снижение уровня адгезивной молекулы может быть трактовано с позиции синтеза ее молекул с измененной первичной структурой из-за миссенс-мутации *c.1550T>C* в гене VE-кадгерина. Это сопровождается не только повышением проницаемости эндотелия, но и усиленным отслоением поврежденных эндотелиоцитов и появлением их в сосудистом русле в виде ЦЭК. Результатом является обширное обнажение подлежащих слоев и, следовательно, экспонирование в просвет сосуда их тромбогенных субстанций, что создает условия для активации реакций коагуляционного гемостаза. С одной стороны, нарушение структурной целостности эндотелиоцитов (показано нами методом электронной микроскопии [20]) сопровождается высвобождением тканевого фактора с активацией «внешнего» пути свертывания крови. С другой, – обнажение базальной мембраны/субэндотелиального слоя результируется в экспонировании тромбогенных субстанций, прежде всего коллагена IV типа, в просвет сосуда с последующей активацией «внутреннего» пути свертывания крови. С третьей, – повреждение плазматической мембраны этих клеток сопровождается экспонированием мембранных фосфолипидов, которые являются дополнительными сайтами для активации процесса свертывания крови по хагеманзависимому пути. Следовательно, генетическая детерминированность развития тяжелой формы ГЛПС из-за снижения продукции VE-кадгерина сопровождается выраженной десквамацией эндотелия и это может явиться основой развития ДВС-синдрома и других осложнений заболевания с последующим развитием синдрома полиорганной недостаточности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Валишин Д.А., Венгеров Ю.Я. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 835-843.
2. Peters C.J., Zaki S.R. Role of endothelium in viral hemorrhagic fevers // Crit. Care Med. 2002. Vol. 30 (Suppl 5). P. 268-273.
3. Valbuena G., Walker D.H. The endothelium as a target for infections // Annu. Rev. Pathol. 2006. Vol. 1(1). P. 171-198.
4. Lee S.K., Kim J.H., Yang W.S. et al. Exogenous nitric oxide inhibits VCAM-1 expression in human peritoneal mesothelial cells. Role of cyclic GMP and NF-kappaB // Nephron. 2002. Vol. 90(4) P. 447-454.
5. Meager A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation // Cytokine and growth factor reviews. 1999. Vol. 10(1). P. 27-39.
6. Vincent P.A., Xiao K., Buckley K.M., Kowalczyk A.P. VE-cadherin: adhesion at arm's length // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2004. Vol. 286(5). P. 987-997.
7. Lagendijk A.K., Hogan B.M. VE-cadherin in vascular development: a coordinator of cell signaling and tissue morphogenesis // Current topics in developmental biology. 2015. Vol. 11. P. 2325-52.
8. Gavard J. Endothelial permeability and VE-cadherin: a wacky comradeship // Cell Adhes. Migr. 2014. Vol. 8. P. 158-164.
9. Dejana E., Tournier-Lasserre E., Weinstein B.M. The control of vascular integrity by endothelial cell junctions: molecular basis and pathological implications // Dev. Cell. 2009. Vol. 16(2). P. 209-221.
10. Stevens T., Garcia J.G., Shasby D.M. et al. Mechanisms regulating endothelial cell barrier function // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2000. Vol. 279(3). P. 419-422.
11. Feldmann H., Steven J., Klenk H.D. et al. Ebola virus: from discovery to vaccine // Nat. Rev. Immunol. 2003. Vol. 3(8). P. 677-685.
12. Geisbert T.W., Jahrling P.B. Exotic emerging viral diseases: progress and challenge // Nat. Med. Suppl. 2004. Vol. 10(12). P. 110-121.

13. Hoenen T., Groseth A., Falzarano D. et al. Ebola virus: unravelling pathogenesis to combat a deadly disease // Trends Mol. Med. 2006. Vol. 12(5). P. 206-215.
14. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions // Physiol. Bohemoslov. 1978. Vol. 27(2). P. 140-144.
15. Shimoyama Y., Tsujimoto G., Kitajima M. et al. Identification of three human type-II classic cadherins and frequent heterophilic interactions between different subclasses of type-II classic cadherins // Biochem J. 2000. Vol. 349. P. 159-167.
16. Maslow E.R., Gavrilovskaya I.N. Hantavirus regulation of endothelial cell function // Thromb. Haemost. 2009. Vol. 102(6). P. 1030-1041.
17. Schnitter H.-J., Struher U., Afanasieva T., Feldman H. The role of endothelial cells in filovirus hemorrhagic fever // Ebola and Marburg Viruses - Molecular and Cellular Biology. Norfolk, UK: Horizon Bioscience, 2004. P. 279-303.
18. Luplertlop N., Missy D., Bray D. et al. Dengue-virus-infected dendritic cells trigger vascular leakage through metalloproteinase overproduction // EMBO Rep. 2006. Vol. 7(11). P. 1176-1181.
19. Connolly-Andersen A.M., Moll G., Andersson C. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus activates endothelial cells // J. Virol. 2011. Vol. 85(15). P. 7766-7774.
20. Байгильдина А.А., Лебедева А.И., Вагапова В.И. Возможные источники циркулирующих в крови эндотелиальных клеток // Морфология. 2011. Т. 139, № 3. С. 58-62.

Поступила в редакцию 07.07.17

A.A. Baygildina

PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF VE-CADHERIN AT HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME

Complications of the viral hemorrhagic fevers are caused by hyperpermeability of the endothelium and its disintegration. The aim of this study was to evaluate the dependence between VE-cadherin and circulating endothelial cells blood levels at HLPS and the association of polymorphism of the VE-cadherin gene with disease severity. Total of 137 patients aged 35,0 [25,0; 47,0] years with serologically confirmed HFRS have been enrolled in this study (the moderate form HFRS was diagnosed in 61 patients, severe uncomplicated form – in 43, severe complicated form – in 33 patients). In a molecular genetic study have been used DNA samples of 319 patients aged 41,2 [26,7; 51,3] years with serologically confirmed HFRS (moderate form – 171 patients, severe uncomplicated form – 95 patients, severe complicated form – 49 patients) and 171 DNA samples of the seronegative donors. VE-cadherin blood level was measured using Bender MedSystems (Austria) ELISA kit, number of circulating endotheliocytes – by J. Hladovec, polymorphism of the VE-cadherin gene *rs1049970* locus - by PCR method of DNA synthesis and RFLP. Statistical analysis has been performed by nonparametric and parametric statistics. The blood level of VE-cadherin was significantly downregulated while the circulating endotheliocytes level was significantly upregulated in all groups of patients with HFRS as compared to healthy controls. There is a strong negative correlation between them. The frequency of the genotype **T/*T* is statistically significantly high in severe complicated HFRS. Decreased blood level of VE-cadherin at moderate HFRS and enhanced desquamation of endothelial cells is associated with an adaptive decreasing of VE-cadherin expression. In severe HFRS desquamation of endothelial cells is associated with the missense mutation c.1550T> C of the VE-cadherin gene.

Keywords: VE-cadherin, circulating endothelial cells, VE-cadherin gene, hemorrhagic fever with renal syndrome.

REFERENCE

1. Valishin D.A. and Vengerov Ju.Ja. *Gemorragicheskaja lihoradka s pochechnym sindromom. Infekcionnye bolezni: nacional'noe rukovodstvo* [Hemorrhagic fever with kidney syndrome. Infectious Diseases: National Leadership], N.D. Juschuka and Ju.Ja. Vengerova (ed.), M.: GEOTAR-Media, 2009, pp. 835-843 (in Russ.).
2. Peters C.J. and Zaki S.R. Role of endothelium in viral hemorrhagic fevers, in *Crit. Care Med.*, 2002, vol. 30 (Suppl 5), pp. 268-273.
3. Valbuena G. and Walker D.H. The endothelium as a target for infections, in *Annu. Rev. Pathol.*, 2006, vol. 1(1), pp. 171-198.
4. Lee S.K., Kim J.H., Yang W.S. et al. Exogenous nitric oxide inhibits VCAM-1 expression in human peritoneal mesothelial cells. Role of cyclic GMP and NF-kappaB, in *Nephron.*, 2002, vol. 90(4), pp. 447-454.
5. Meager A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation, in *Cytokine and growth factor reviews*, 1999, vol. 10(1), pp. 27-39.
6. Vincent P.A., Xiao K., Buckley K.M. and Kowalczyk A.P. VE-cadherin: adhesion at arm's length, in *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2004, vol. 286(5), pp. 987-997.

7. Lagendijk A.K. and Hogan B.M. VE-cadherin in vascular development: a coordinator of cell signaling and tissue morphogenesis, in *Current topics in developmental biology*, 2015, vol. 11, pp. 2325-52.
8. Gavard J. Endothelial permeability and VE-cadherin: a wacky comradeship, in *Cell Adhes. Migr.*, 2014, vol. 8, pp. 158-164.
9. Dejana E., Tournier-Lasserre E. and Weinstein B.M. The control of vascular integrity by endothelial cell junctions: molecular basis and pathological implications, in *Dev. Cell.*, 2009, vol. 16(2), pp. 209-221.
10. Stevens T., Garcia J.G., Shasby D.M. et al. Mechanisms regulating endothelial cell barrier function, in *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2000, vol. 279(3), pp. 419-422.
11. Feldmann H., Steven J., Klenk H.D. et al. Ebola virus: from discovery to vaccine, in *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, vol. 3(8), pp. 677-685.
12. Geisbert T.W. and Jahrling P.B. Exotic emerging viral diseases: progress and challenge, in *Nat. Med. Suppl.*, 2004, vol. 10 (12), pp. 110-121.
13. Hoenen T., Groseth A., Falzarano D. et al. Ebola virus: unravelling pathogenesis to combat a deadly disease, in *Trends Mol. Med.*, 2006, vol. 12(5), pp. 206-215.
14. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions, in *Physiol. Bohemoslov.*, 1978, vol. 27(2), pp. 140-144.
15. Shimoyama Y., Tsujimoto G., Kitajima M. et al. Identification of three human type-II classic cadherins and frequent heterophilic interactions between different subclasses of type-II classic cadherins, in *Biochem J.*, 2000, vol. 349, pp. 159-167.
16. Maslow E.R. and Gavrilovskaya I.N. Hantavirus regulation of endothelial cell function, in *Thromb. Haemost.*, 2009, vol. 102(6), pp. 1030-1041.
17. Schnitter H.-J., Struher U., Afanasieva T. and Feldman H. The role of endothelial cells in filovirus hemorrhagic fever, in *Ebola and Marburg Viruses – Molecular and Cellular Biology*, Norfolk, UK: Horizon Bioscience, 2004, pp. 279-303.
18. Luplertrop N., Missy D., Bray D. et al. Dengue-virus-infected dendritic cells trigger vascular leakage through metalloproteinase overproduction, in *EMBO Rep.*, 2006, vol. 7(11), pp. 1176-1181.
19. Connolly-Andersen A.M., Moll G., Andersson C. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus activates endothelial cells, in *J. Virol.*, 2011, vol. 85(15), pp. 7766-7774.
20. Bajgil'dina A.A., Lebedeva A.I. and Vagapova V.Sh. [Possible sources of endothelial cells circulating in the blood], in *Morfologija*, 2011, vol. 139, no 3, pp. 58-62 (in Russ.).

Байгильдина Асия Ахметовна,
доктор медицинских наук, доцент,
профессор кафедры биохимии
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный
медицинский университет» Минздрава России
450008, Россия, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3
E-mail: baigildinaasia@mail.ru

Baygildina A.A.
Doctor of Medicine, Associate Professor,
Professor at department of Biochemistry
Bashkir State Medical University
Lenina st., 1, Ufa, Russia, 450008
E-mail: baigildinaasia@mail.ru