

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Преснякова М.В., Арефьев И.Ю., Галова Е.А., Крестова Е.И., Костина О.В.

ЗНАЧИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИОПАТИИ ПРИ РАЗВИТИИ «РАННЕГО» СЕПСИСА У ТЯЖЕЛООБОЖЖЁННЫХ

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава РФ, 603950, Нижний Новгород, Россия

Эндотелиопатия имеет существенное значение в патогенезе ожоговой болезни, во многом обуславливая её течение и исход. **Цель исследования** - оценка прогностических возможностей биологических маркеров эндотелиальной дисфункции и деградации гликокаликса при развитии «раннего» сепсиса у пациентов с тяжёлой ожоговой травмой.

Материал и методы. Концентрация синдекана-1 (СД-1), растворимого тромбомодулина (рТМ) и активность антитромбина III (АТIII) в плазме крови определена у 35 пациентов (28 мужчин и 7 женщин) средней возрастной группы (43 ± 16 года), получивших термическую травму площадью более 32% ($49,4 \pm 18,3$) поверхности тела, сопровождающуюся развитием ожогового шока, из них у 7 человек развился «ранний сепсис». Взятие крови проводили на 1, 2, 3, 6 и 11-е сутки после ожога. Взаимосвязь уровня компонентов гликокаликса в плазме крови с клинической картиной ожоговой болезни оценивали с использованием критерия Спирмена и γ . Прогностическую роль СД-1, рТМ и активности АТIII оценивали при помощи ROC-анализа. **Результаты.** Тяжёлая термическая травма вызывает выраженное повреждение гликокаликса. На протяжении всего изучаемого периода отмечалось статистически значимое изменение уровня СД-1, рТМ и АТIII по сравнению с контролем, более выраженные нарушения отмечались в группе с сепсисом. Корреляционный анализ показал, что уровни СД-1, рТМ, АТIII со средней и высокой силой сопряжены с тяжестью термической травмы, развитием «раннего» сепсиса и неблагоприятным исходом ожоговой болезни. С применением ROC анализа установлено, что повышение концентрации в плазме $rTM \geq 36,6$ нг/л на 2-е сутки после ожога, $CD-1 \geq 5,0$ нг/л на 3-и сутки и снижение активности $ATIII \leq 58\%$ на 2-е сутки является типичным для развития сепсиса в острый период ожоговой болезни.

Заключение. Тяжёлая термическая травма приводит к развитию выраженной эндотелиальной дисфункции и деградации гликокаликса. Биологические маркеры данных процессов регистрируются на протяжении всего острого периода ожоговой болезни, их уровень коррелирует с тяжестью травмы, развитием «раннего» сепсиса и неблагоприятным исходом. Концентрации СД-1 и рТМ, активность АТIII имеют предикторную ценность при развитии «раннего» сепсиса у тяжелообожжённых.

Ключевые слова: эндотелиопатия; гликокаликс; синдекан-1; тромбомодулин; АТIII; ожог

Для цитирования: Преснякова М.В., Арефьев И.Ю., Галова Е.А., Крестова Е.И., Костина О.В. Значимость биологических маркеров эндотелиопатии при развитии «раннего» сепсиса у тяжелообожжённых. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 257-264.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-6-257-264>

Для корреспонденции: Преснякова Марина Владимировна, канд. биол. наук, биолог лаборатории биохимии и неотложной диагностики Лабораторного отдела Университетской клиники; e-mail: Presnyakova@list.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.03.2024
Принята к печати 06.05.2024
Опубликовано 25.05.2024

Presnyakova M.V., Arefiev I.Yu., Galova E.A., Krestova E.I., Kostina O.V.

THE SIGNIFICANCE OF BIOLOGICAL MARKERS OF ENDOTHELIOPATHY IN THE DEVELOPMENT OF «EARLY» SEPSIS IN SEVERELY BURNED PATIENTS

FSBEI HE «Privolzhsky Research Medical University» MOH Russia, 603950, Nizhny Novgorod, Russia

Endotheliopathy is of significant importance in the pathogenesis of burn disease, largely determining its course and outcome.

Objective: to study the prognostic capabilities of biological markers of endothelial dysfunction and glycoalyx degradation in the development of “early” sepsis in patients with severe burn injury.

Material and methods. The concentration of syndecan-1 (SD-1), soluble thrombomodulin (sTM) and the activity of antithrombin III (ATIII) in plasma was determined in 35 patients (28 men and 7 women) of the middle age group (43 ± 16 years), who received a thermal injury more than 32% (49.4 ± 18.3) of the body surface, accompanied by the development of burn shock, of which 7 people developed “early sepsis”. Blood sampling was carried out on days 1, 2, 3, 6 and 11 after the burn. The relationship between the level of glycoalyx components in blood plasma and the clinical picture of burn disease was assessed using Spearman's test and γ . The prognostic role of T1DM, rTM and ATIII activity was assessed using ROC analysis.

Results. Severe thermal injury causes severe damage to the glycoalyx. Throughout the entire study period, there was a statistically significant change in the levels of DM-1, rTM and ATIII compared to the control; more pronounced disorders were noted in the group

with sepsis. Correlation analysis showed that the levels of CD-1, rTM and ATIII with medium and high strength are associated with the severity of thermal injury, the development of "early" sepsis and the unfavorable outcome of burn disease. Using ROC analysis, it was found that an increase in plasma concentration of rTM ≥ 36.6 pg/l on the 2nd day after the burn, CD-1 ≥ 5.0 ng/l on the 3rd day and a decrease in ATIII activity $\leq 58\%$ on Day 2 is typical for the development of sepsis in the acute period of burn disease.

Conclusion. Severe thermal injury leads to the development of severe endothelial dysfunction and degradation of the glycocalyx. Biological markers of these processes are recorded throughout the entire acute period of burn disease, their level correlates with the severity of the injury, the development of "early" sepsis and unfavorable outcome. Concentrations of CD-1 and rTM, as well as ATIII activity, have predictive value in the development of "early" sepsis in severely burned patients.

Key words: endotheliopathy; glycocalyx; syndecan-1; thrombomodulin; ATIII; burn

For citation: Presnyakova M.V., Arefiev I.Yu., Galova E.A., Krestova E.I., Kostina O.V.

The significance of biological markers of endotheliopathy in the development of «early» sepsis in severely burned patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (6): 257-264 (in Russ.).

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-6-257-264

For correspondence: Presnyakova M.V., Cand. Sci. Biol., biologist, Laboratory Research Department, University Hospital; e-mail: Presnyakova@list.ru

Information about authors:

Presnyakova M.V., <https://orcid.org/0000-0002-3951-9403>;

Arefyev I.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-2209-5448>;

Galova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-9574-2933>;

Krestova E.I., <https://orcid.org/0009-0008-9948-5242>;

Kostina O.V., <https://orcid.org/0000-0001-7529-2544>.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 27.03.2024

Accepted 06.05.2024

Published 25.05.2024

Введение. Сепсис относится к числу весьма ранних осложнений ожоговой болезни и продолжает оставаться, наряду с пневмонией, ведущей причиной смерти пострадавших от термической травмы. Он характеризуется молниеносным, крайне тяжёлым течением, сложностью диагностики, высокой летальностью [1-4].

Гиповолемическое состояние, иммунные и воспалительные реакции, мощная активация системы гемостаза, метаболические изменения, развивающиеся в ответ на ожоговую травму, являются факторами риска развития сепсиса [5].

Патогенетический механизм сепсиса сложен. Одним из факторов, приводящих к его развитию, является нарушение функции эндотелиальных клеток и деградация гликокаликса. Дисфункция эндотелия (ДЭ) сопровождается изменением фенотипа эндотелиальных клеток, которые приобретают провоспалительный, проадгезивный, проапоптотический и прокоагулянтный характер [6].

Наряду с этим гипоксия, провоспалительные цитокины, такие как TNF- α и IL-6, и циркулирующий тромбин способствуют активации и дисфункции эндотелиальных клеток, инициируя каскад внутриклеточной передачи сигналов, приводящий к дальнейшему высвобождению цитокинов, хемокинов, факторов роста, участвующих во врождённом иммунном ответе на шок, травму и инфекцию [7].

Для оценки нарушения функции эндотелия определяют содержание трансмембранных белков (тромбомодулин, молекулы адгезии и рецепторы), внеклеточных везикул, циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников. Поскольку эндотелиальные клетки многопотенциальны, универсального биомаркера их повреждения не существует. Измерение уровня цирку-

лирующих компонентов гликокаликса является одним из способов оценки функции эндотелия [8].

Исходно в неповреждённых сосудах эндотелиальный гликокаликс (ЭГ) играет васкулопротекторную роль, выполняя ряд важных физиологических функций, включая регуляцию проницаемости сосудов, лейкоцитарно-эндотелиальные и тромбоцитарно-эндотелиальные взаимодействия, поддержание антикоагуляционного потенциала сосудистой стенки, защиту эндотелиальных клеток от напряжения сдвига, индуцированного потоком крови. ЭГ хрупок и может быстро разрушаться в ответ на ишемию или воспаление, теряя свои компоненты и приводя к экстравазации жидкости, отёку, адгезии лейкоцитов и тромбоцитов, гиперкоагуляции и нарушению микроциркуляции [9].

Нарушенная барьерная функция эндотелия в результате выпадения ЭГ и активированная система свертывания крови способствуют развитию повышенной проницаемости капилляров, микрососудистого тромбоза и тканевой гипоксии, что в конечном итоге приводит к опасной для жизни органной недостаточности [6].

Поскольку ЭД, деградация ЭГ и связанные с ними нарушения свертывания крови важны в патогенезе сепсиса, проведено много исследований с целью тестирования новых методов лечения, которые могли бы предотвратить вызванные сепсисом коагулопатии. Лишь немногие исследователи рассматривают ЭД и деградацию ЭГ в качестве предикторов сепсиса и факторов риска его развития [10].

Определение уровней СД-1, рТМ, АТШ - биологических маркёров ЭД и повреждения ЭГ - является перспективным направлением в изучении патогенеза сепсиса, разработке подходов к его диагностике и лечению [11].

СД-1 представляет собой протеогликан из семейства

гепарансульфатпротеогликанов клеточной поверхности и является важнейшим компонентом апикального гликокаликса, играющим ключевую роль в регуляции клеточного поведения и передаче внешних механических воздействий на всю клетку через свои связи со специфическими белками в кортикальном цитоскелете. Благодаря этому СД-1 может модулировать рекрутинг лейкоцитов, пролиферацию и инвазию раковых клеток, ангиогенез, прикрепление и проникновение микроорганизмов, механизмы защиты при воспалении и ремоделирование матрикса [12]. Уровень СД-1 рассматривается в качестве биомаркера для выявления ранних признаков дисфункции почек, печени, свертывающей системы крови [13].

ТМ - трансмембранный белок с массой 74 кДа, который преимущественно экспрессируется в эндотелиальном гликокаликсе и, в меньшей степени, в мезангиальных клетках, мезотелиальных клетках, дендритных клетках и моноцитах, и играет важную роль во многих биологических процессах. ТМ присущи антикоагулянтные и противовоспалительные свойства. ТМ в плазме крови связывает тромбин, и комплекс тромбин-ТМ на поверхности эндотелия активирует протеин С, ингибирующий прокоагулянтные кофакторы Va и VIIIa [14]. ТМ действует как естественный регулятор воспаления через свой лектиноподобный домен TMD₁, подавляя адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам [12], препятствуя активации системы комплемента [15, 16], нейтрализуя DAMPs, включая белок box 1 группы высокой мобильности (HMGB₁) и гистоны [17], выполняя важную защитную функцию при нейтрализации ЛПС, индуцируя агрегацию и усиливая фагоцитоз бактерий макрофагами [18].

ТМ ферментативно отщепляется от эндотелиальных клеток в виде растворимой формы и высвобождается в кровоток при прямом их повреждении, тем самым отражая глубокую эндотелиальную дисфункцию [19].

Растворимый тромбомодулин (рТМ) является ценным биомаркером для стратификации риска и оценки прогноза сепсиса при неотложных состояниях. Показана взаимосвязь уровней СД-1 и рТМ в сыворотке крови с тяжестью органной дисфункции у пациентов с сепсисом [20]. Выявлено повышение уровня рТМ при сердечно-сосудистых заболеваниях [21], инсульте [22], онкологии [23].

Антитромбин III (АТIII) является одним из ведущих физиологических антикоагулянтов. Синтезируется АТIII в печени и эндотелиальных клетках сосудов. Эндотелиоциты являются главным источником АТIII в организме. АТIII играет ключевую роль в реакциях свертывания крови. Он является растворимым белком гликокаликса, обуславливая его антикоагулянтные и антитромботические свойства [24].

АТIII инактивирует сериновые протеиназы – тромбин и факторы Ха, IXa, XIa, XIIa, прекалликреин, калликреин, трипсин и плазмин, препятствует переходу протромбина в тромбин. На долю АТIII приходится от 75% до 80% ингибирующей тромбин активности [25]. Антикоагулянтные свойства АТIII усиливаются за счёт связывания с гепарансульфатом, секретлируемым эндотелиальными клетками [7].

АТIII оказывает прямое противомикробное действие: в зависимости от гликозилирования он может

связываться с клеточными стенками бактерий и перфорировать их. Пептидные фрагменты, полученные в результате протеолитической деградации АТ, проявляют антибактериальные свойства. Выработка простаглицина-2 эндотелиальными клетками стимулируется путём связывания АТ с гепарансульфатом на эндотелиальных клетках. В свою очередь, простаглицин-2 ингибирует секрецию провоспалительных цитокинов и их взаимодействие с эндотелиальными клетками и нейтрофилами. АТ связывается с синдеканом-4 на поверхности нейтрофилов и впоследствии ингибирует миграцию нейтрофилов. Сообщалось, что АТ угнетает секрецию IL-6, IL-8 и р-селектина из эндотелиальных клеток, действуя через рецепторы, активируемые протеазой (PAR). Обнаружено, что АТ ослабляет острое повреждение лёгких, снижая выработку амфотерина [26].

Определение активности АТIII является одним из ключевых тестов для диагностики синдрома ДВС, так как она отражает адаптационные возможности системы гемостаза в ответ на стрессовый фактор [27]. Учитывая роль АТIII в поддержании антитромботического потенциала сосудистой стенки, снижение его активности можно рассматривать как показатель системного повреждения эндотелиальных клеток.

Биомолекулы, ассоциированные с ЭД, и продукты деградации ЭГ играют значимую роль в поддержании гемостаза организма, обеспечивая защиту в условиях воспаления и активации системы гемостаза. Прогностические возможности биомаркеров данных нарушений при развитии генерализованной инфекции при тяжёлой термической травме пока не выяснены и требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования - оценка прогностических возможностей биологических маркеров ЭД и деградации ЭГ при развитии «раннего» сепсиса у пациентов с тяжёлой ожоговой травмой.

Материал и методы. Уровни СД-1, рТМ и активность АТIII изучены у 35 пациентов (28 мужчин и 7 женщин) средней возрастной группы (43±16 года) с тяжёлой термической травмой площадью 49,4±18,3% поверхности тела, сопровождающейся развитием ожогового шока. Из них у 7 человек развился сепсис, который был диагностирован в клинике на 4-11-е сутки после ожога. При оценке состояния пациента с сепсисом для определения тяжести органной дисфункции использована шкала последовательной оценки органной недостаточности (SOFA). У всех пациентов определено количество тромбоцитов, концентрация билирубина и креатинина, соотношение PaO₂/FiO₂. Для оценки тяжести ожогового повреждения использован модифицированный индекс Франка [28]. В связи с небольшим количеством обследованных пациентов графика по тяжести травмы не проводилась.

Основные критерии включения пациентов в исследование: возраст 18-65 лет, ожог II степени площадью более 20%, III степени - площадью более 10% поверхности тела, подписанное большим информированное согласие на участие в исследовании. Пациенты находились на лечении в Университетской клинике Приволжского исследовательского медицинского университета. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (2013) и одобрено локальным этическим комитетом Приволжского исследовательского

медицинского университета. У всех пациентов произведено взятие проб венозной крови на 1, 2, 3, 6, 11-е сутки после ожога. Кровь для определения АТШ, рТМ и СД-1 забиралась из катетера с помощью шприца, что обусловлено обширностью ожоговой травмы. Первые 5 мл крови сбрасывались, следующие порции из шприца переливали в пробирки Vacutainer (открыв колпачок) согласно последовательности наполнения: вначале - в пробирку для получения сыворотки крови, затем - в пробирку с 3,8% цитратом натрия для коагулологических исследований, после этого - в пробирку с ЭДТА для общего анализа крови.

Режим центрифугирования крови для определения изучаемых показателей соответствовал заявленной инструкции производителя. Активность АТШ определяли в плазме в течение часа после взятия крови. Для определения концентрации СД-1 и рТМ использованы предварительно замороженные при -80°C образцы сыворотки и плазмы соответственно. Продолжительность хранения в замороженном состоянии не превышала 2-х месяцев. Концентрацию СД-1 и рТМ определяли методом ИФА (производитель наборов - Clond-Clone Corp., США) на анализаторе Multiscan (Австрия), активность АТШ - на анализаторе гемостаза ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory Company, США) с использованием стандартных тест-наборов.

Статистическая обработка данных проведена с

помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.). Для проверки статистических гипотез использован U-критерий Манна-Уитни, коэффициенты корреляции Спирмена и гамма. Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05. Количественные характеристики признаков представлены медианой (Me), первым и третьим квартилем (Q_1 и Q_3 соответственно). Для расчёта пороговых значений, диагностической эффективности и прогностической значимости показателей ЭГ проведён ROC-анализ. Определены следующие параметры: AUC (area under curve) - площадь под кривой, характеризующая диагностическую ценность показателя (0.9-1.0 - отличная; 0.8-0.9 - очень хорошая; 0.7-0.8 - хорошая, 0.6-0.7 - средняя, 0.6 и меньше - неудовлетворительная), чувствительность и специфичность теста, критические значения («cut-off point») показателей. Результаты исследования сравнивали с показателями контрольной группы условно здоровых добровольцев ($n=15$).

Результаты. Анализ полученных данных показал, что тяжёлая термическая травма вызывает ЭД и деградацию ЭГ, о чем свидетельствуют выраженные изменения уровня СД-1, рТМ, АТШ.

В острый период ожоговой болезни медиана концентрации СД-1 превышала таковую в контрольной группе в 3,1-7,3 раза, рТМ - в 1,8-1,6 раза, активности АТШ - в 1,1-1,5 раза (табл. 1).

Таблица 1

Динамика уровня компонентов гликокаликса у пациентов с тяжёлой термической травмой в острый период ожоговой болезни ((Me ($Q_1;Q_3$)))

Показатель	Сутки после ожога					Контроль
	1	2	3	6	11	
Синдекан-1, нг/мл	7,66* [1,12;32,0]	4,75* [0,72;40,0]	3,77* [1,44;22,4]	3,2* [1,48;8,9]	6,15* [1,79;12,8]	1,05 [0,9;1,34]
Тромбомодулин, пг/мл	32,6* [18,5;410,3]	29,2* [15,1;242]	30,7* [17,7;45,3]	33,4* [14,8;54,5]	31,5* [15,6;56,4]	18,7 [15,9;20,9]
Антитромбин III, % активности	68,0* [32,0;84,0]	75,0* [42,0;99,0]	81,0* [44,0;98,0]	89,0* [56,0;111]	89,0* [47,0;115]	99,1 [97,7;102]

Примечание. * - Статистическая значимость различий с уровнем в контрольной группе.

Корреляционный анализ выявил ассоциативные связи изучаемых биологических маркёров с клинической картиной ожоговой болезни.

Содержание СД-1 и рТМ, активность АТШ сопряжены с тяжестью ожоговой травмы, значения коэффициента корреляции составили $r=0,68$, $p=0,001$; $r=0,49$, $p=0,009$; $r=-0,58$, $p=0,002$, соответственно.

Повышение концентрации СД-1 и рТМ, снижение активности АТШ более выражены у пациентов с неблагоприятным течением ожоговой болезни. Определена высокая степень соответствия изменения изучаемых показателей с исходом ожоговой болезни ($\gamma=0,81$, $p=0,008$; $\gamma=0,90$, $p=0,010$; $\gamma=0,94$, $p=0,002$, соответственно).

Выявлена взаимосвязь высокой силы между развитием «раннего» сепсиса и уровнем изучаемых биологических маркёров: СД-1 ($\gamma=0,87$; $p=0,001$), рТМ ($\gamma=0,78$;

$p=0,002$) и АТШ ($\gamma=-0,88$; $p=0,001$).

На основе полученных данных предпринята попытка оценить индикаторные возможности биологических маркёров деградации ЭГ в плане развития «раннего» сепсиса у тяжелообожжённых. Выделены 2 группы пациентов: без инфекции в острый период ожоговой болезни (группа 1, $n=28$) и с сепсисом (группа 2, $n=7$).

Анализ полученных данных показал, что развитие инфекционных осложнений в ранний период ожоговой болезни сопровождается увеличением концентрации СД-1 и рТМ, снижением антитромбиновой активности. В частности, концентрация СД-1 во 2-й группе по сравнению с 1-й увеличивалась от 2,2 до 8,2 раз с максимумом на 3-и сутки после ожога (табл. 2).

Медиана содержания рТМ в группе с сепсисом превышала таковую в группе без развития инфекции в 1,5-2,2

Таблица 2

Динамика компонентов эндотелия у пациентов с тяжёлой термической травмой в зависимости от развития сепсиса ((Me (Q₁;Q₃))

Показатель	Группа	Сутки после ожога					Контроль
		1	2	3	6	11	
Синдекан, нг/мл	1	7,24* [1,12;22,8]	3,3* [0,5;17,1]	2,09* [0,16;6,34]	2,72* [1,48;6,7]	4,36* [1,79;9,31]	1,05 [0,9;1,34]
	2	15,8*, ** [0,1;44,8]	9,94*, ** [0,1;57,4]	14,9*, ** [5,0;38,0]	7,5*, ** [2,01;31,9]	11,0*, ** [5,27;39,2]	
Тромбомодулин, пг/мл	1	30,3 [18,0;52,6]	24,7 [15,1;40,9]	28,6 [17,7;41,7]	26,6 [14,0;49,4]	31,0 [15,6;40,2]	18,7 [15,9;20,9]
	2	41,7*, ** [32,6;614]	42,8*, ** [28,6;425]	34,6*, ** [20,3;49,4]	47,0*, ** [34,1;477]	33,2*, ** [18,0;110,4]	
Антитромбин III, % активности	1	70,0* [46,0;84,0]	79,0* [51,0;100]	85,5* [48,0;99,0]	95,0* [68,0;115]	93,0* [62,0;115]	99,1 [97,7;102]
	2	52,2*, ** [24,0;69,0]	39,5*, ** [20,0;62,0]	50,5*, ** [18,8;76,0]	56,0*, ** [50,0;59,0]	43,0*, ** [36,0;71,0]	

Примечание. * - Статистическая значимость различий между контрольной группой и группами 1 и 2; ** - статистическая значимость различий между группами 1 и 2.

раза, наибольшее различие выявлено на 2 сутки после ожога (см. табл. 2).

Одной из характерных особенностей развития генерализованной инфекции у тяжелообожжённых являлась низкая активность АТIII, регистрировавшаяся на протяжении всего срока наблюдения. Наименьшее значение медианы активности отмечено на 2-е сутки

после травмы (см. табл. 2).

С применением ROC анализа рассчитаны концентрации СД-1 и рТМ, активность АТIII, имеющие значение в диагностике развития генерализованной инфекции в ранние сроки после ожога (табл. 3). ROC кривые для СД-1, рТМ, АТIII представлены на рисунке, а – в.

Таблица 3

Операционные характеристики тестов определения концентрации синдекана-1, растворимого тромбомодулина, активности антитромбина III в плазме крови пациентов с тяжёлой термической травмой с целью диагностики «раннего» сепсиса (ROC-анализ)

Операционные характеристики теста	Тромбомодулин, пг/мл	Синдекан-1, нг/мл	Антитромбин III, % активности
Точка разделения	36,6	5,0	58
Чувствительность, %	99	83	83
Специфичность, %	91	82	88
AUC с 95% ДИ	0,929±0,0722	0,930±0,0528	0,939±0,0467
Прогностичность положительного результата (PVP), %	71	63	63
Прогностичность отрицательного результата (PVN), %	99	93	96

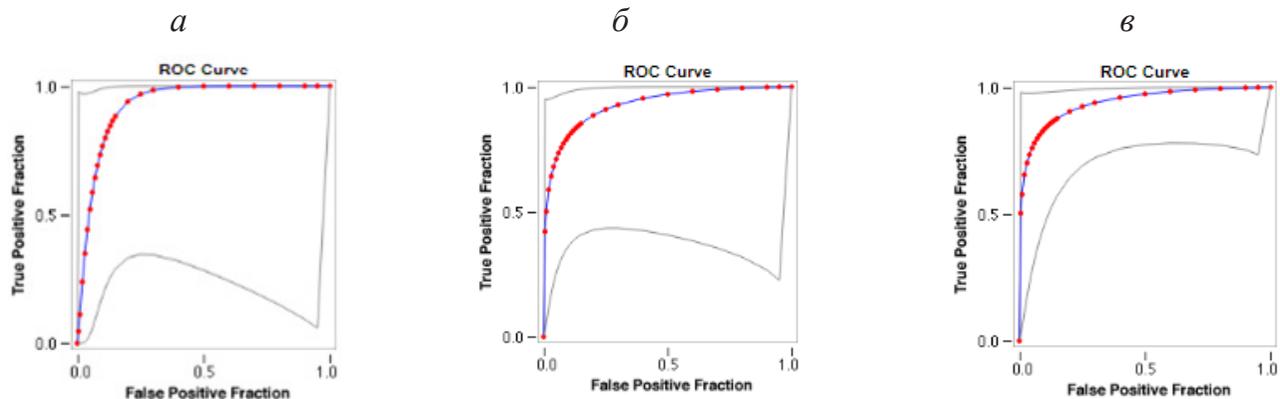


Рис. ROC кривые для тромбомодулина (а), синдекана-1 (б), антитромбина III (в).

Установлено, что повышение концентрации рТМ $\geq 36,6$ пг/л на 2-е сутки после ожога, СД-1 $\geq 5,0$ нг/л на 3-и сутки, снижение активности АТШ $\leq 58\%$ на 2-е сутки является типичным для развития сепсиса в острый период ожоговой болезни.

Обсуждение. Термические ожоги вызывают в организме развитие таких системных патологических процессов, как воспаление, оксидативный стресс, диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови, которые, в свою очередь, являются индукторами гипоксии, плазмопотери, гипотермии и вызывают нарушения микроциркуляции, развитие полиорганной недостаточности и инфекционных осложнений [29]. Неотъемлемой частью патогенеза ожоговой болезни является нарушения функционального состояния эндотелия. Одной из составляющих дисфункции эндотелия является повреждение эндотелиального гликокаликса (ЭГ).

При тяжёлых травмах факторами, вызывающими повреждения ЭГ, могут быть гипероксия, внеклеточные ловушки нейтрофильных клеток, гиповолемия и ишемические / реперфузионные повреждения [30].

Дегградация гликокаликса признана важным аспектом патогенеза сепсиса. Хотя механизмы дегградации полностью не выяснены, повышенные уровни компонентов гликокаликса в плазме крови и моче указывают на его разрушение и могут служить диагностическими и прогностическими биомаркерами при сепсисе [18].

Полученные данные свидетельствуют о выраженном повреждении гликокаликса при тяжёлой термической травме. На протяжении острого периода ожоговой болезни отмечались значительные изменения уровней СД-1, рТМ, АТШ, более выраженные в группе пациентов с «ранним» сепсисом. Снижение активности АТШ, повышение содержания его кофактора СД-1, увеличения уровня рТМ, свидетельствуют об усилении как прокоагулянтного состояния крови, так и системной воспалительной реакции.

Всё больше данных указывают на взаимосвязь между этими двумя системами, при которой воспаление не только приводит к активации коагуляции, но и коагуляция значительно влияет на активность воспаления. Активация системы свертывания крови и последующее образование тромбина зависят от индуцированной интерлейкином-6 экспрессии тканевого фактора на активированных мононуклеарных и эндотелиальных клетках и недостаточной активности ингибитора пути тканевого фактора. Одновременно система белка С и антитромбиновая система ингибируются провоспалительными цитокинами. Модуляция воспалительной активности в результате активации коагуляции происходит с помощью различных механизмов. Активированные протеазы свертывания, такие как комплекс тканевой фактор-фактор VIIa, фактор Ха и тромбин, могут связываться с активными протеазой рецепторами (PAR) на различных клетках, и последующая внутриклеточная передача сигналов приводит к увеличению продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов [31].

Результаты работы демонстрируют возможности использования результатов определения уровней СД-1, рТМ, АТШ в сыворотке/плазме крови для диагностики «раннего» сепсиса у тяжелообожжённых. Установлено, что повышение концентрации рТМ $\geq 36,6$ пг/л на 2-е сутки после ожога, СД-1 $\geq 5,0$ нг/л на 3-и сутки,

снижение активности АТШ $\leq 58\%$ на 2-е сутки является типичным для развития сепсиса в острый период ожоговой болезни (2-10-е сутки после травмы).

Данные литературы подтверждают возможность использования результатов определения компонентов гликокаликса в крови в качестве прогностических маркёров течения основного заболевания, развития инфекционных осложнений и исхода патологического процесса.

Повышение уровня СД-1 при механических [32] и ожоговых [24] травмах, сепсисе [20] ассоциируется с воспалением, коагулопатией и повышенной смертностью [33]. Увеличение его концентрации в сыворотке крови взаимосвязано с усилением вазоконстрикции, дисфункцией микроциркуляции и развитием диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови при сепсисе [34].

Растворимый тромбомодулин (рТМ) является ценным биомаркером для стратификации риска и оценки прогноза сепсиса при неотложных состояниях. Содержание рТМ в сыворотке крови является чувствительным предиктором развития септического шока, ДВС-синдрома, полиорганной недостаточности и смертности [35].

Предыдущие исследования показали взаимосвязь повышения уровня СД-1 и рТМ с неблагоприятным исходом ожоговой болезни [36].

Снижение уровня АТ имеет большое значение при различных патологических состояниях, связанных с повышенным потреблением АТ, сниженным синтезом или дегградацией ферментами, высвобождаемыми нейтрофилами [37]. Чем ниже уровень АТ в плазме, тем хуже прогнозируемый исход тяжёлых воспалительных синдромов, таких как сепсис. Рекомендовано определять АТ в период «разгара» заболевания для прогнозирования тяжести течения и вероятного исхода сепсиса [38].

Дефицит АТШ при тяжёлых ожогах может рассматриваться как предиктор увеличения сроков нахождения пациента в стационаре и неблагоприятного исхода ожоговой болезни [4].

Активность АТШ является одним из немногих биологических маркёров повреждения эндотелия, отражающих тяжесть заболевания и доступных в большинстве клинических условий [34].

Заключение. Анализ литературы и полученные результаты свидетельствуют о значимой роли ТМ, СД-1, АТШ в патогенезе острого периода ожоговой болезни. Уровень СД-1, ТМ, активность АТШ коррелируют с тяжестью травмы, развитием генерализованной инфекции и неблагоприятным исходом ожоговой болезни, они обладают прогностическими свойствами, опережая развитие клинической картины «раннего» сепсиса. Полагаем, что изучение роли эндотелиопатии и дегградации гликокаликса в патогенезе ожоговой болезни является перспективным и требует дальнейшего продолжения.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3, 5-26, 29-35, 37 см.
REFERENCES)

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Бобровников А.Э. Сепсис у обожжённых: вопросы диагностики профилактики и лечения. Инфекция и антимикробная терапия. 2001; 3: 74-6.
2. Вазина И.Р., Бугров С.Н. Ожоги: от чего погибают пострадавшие?

- Нижегородские ведомости медицины. 2008; 9: 58-62.
4. Преснякова М. В. Информационная значимость гемостазиологических нарушений при развитии «раннего» сепсиса у тяжелообожженных. *Экология человека*. 2013; 3: 46-53.
27. Багин В.А., Руднов В.А., Коробко И.А., Вейн В.И., Астафьева М.Н. Валидация прогностических индексов у взрослых пациентов с ожоговой травмой. *Анестезиология и реаниматология*. 2018; 3: 64-70. DOI: 10.17116/anaesthesiology201803164.
28. Папаян Л. П., Барышев Б. А. Особенности патогенеза и диагностики ДВС-синдрома. Материалы 2-й научно-практической конференции «Актуальные проблемы гемостазиологии». Архангельск: Северный государственный медицинский университет; 2002: 82-95.
36. Преснякова В. И. Загреков Е. А. Галова Е.А., Пушкин А.С., Ашкинази В.И., Костина О.В. Диагностическая и прогностическая значимость определения компонентов эндотелиального гликокаликса у пациентов с тяжелыми ожогами. *Современные проблемы науки и образования*. 2022; 4: 121. DOI: 10.17513/spno.31966.
38. Редкин И.В., Лопатин А.Ф., Скрипкин Ю.В., Самойленко В.В., Лихванцев В.В. Определение уровня антитромбина позволяет прогнозировать клинические исходы сепсиса. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2018; 15(3): 41-6. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-3-41-46.

REFERENCES

1. Alekseev A.A., Krutikov M.G., Bobrovnikov A.E. Sepsis in burnt patients: issues of diagnosis, prevention and treatment. *Infektsiya i antimikrobnaya terapiya*. 2001; 3: 74-6. (in Russian)
2. Vazina I. R., Bugrov S. Burns: what causes victims to die? *Nizhegorodskie ведомosti meditsiny*. 2008; 9: 58-62. (in Russian)
3. Greenhalgh D.G. Sepsis in the burn patient: a different problem than sepsis in the general population. *Burn. Trauma*. 2017; 5: 23. DOI: 10.1186/s41038-017-0089-5.
4. Presnyakova M.V. Informational significance of hemostasiological disorders in the development of "early" sepsis in severely burned patients. *Ekologiya cheloveka*. 2013; 3: 46-53. (in Russian)
5. Zhang P., Zou B., Liou Y.C., Huang C. The pathogenesis and diagnosis of sepsis post burn injury. *Burns Trauma*. 2021; 9:tkaa047. DOI: 10.1093/burnst/tkaa047.
6. Shi Y., Ji S., Xu Y., Ji J., Yang X., Ye B., Lou J., Tao T. Global trends in research on endothelial cells and sepsis between 2002 and 2022: A systematic bibliometric analysis. *Heliyon*. 2023; 10(1): e23599. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e23599.
7. Iba T., Levy J.H. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *J. Thromb. Haemost.* 2019 Feb; 17(2): 283-94. DOI: 10.1111/jth.14371. Epub 2019 Feb 3. PMID: 30582882.
8. Belousoviene E., Kiudulaite I., Pilvinis V., Pranskunas A. Links between endothelial glycocalyx changes and microcirculatory parameters in septic patients. *Life (Basel)*. 2021; 11(8): 790. DOI: 10.3390/life11080790.
9. Barry M., Pati S. Targeting repair of the vascular endothelium and glycocalyx after traumatic injury with plasma and platelet resuscitation. *Matrix Biol. Plus*. 2022; 14:100107. DOI: 10.1016/j.mbplus.2022.100107.
10. Mihajlovic D.M., Lendak D.F., Draskovic B.G., Mikic A.S., Mitic G.P., Cebovic T.N., Brkic S.V. Thrombomodulin is a strong predictor of multiorgan dysfunction syndrome in patients with sepsis. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2015; 21(5): 469-74. DOI: 10.1177/1076029613508600.
11. Yung S., Chan T.M. Endothelial cell activation and glycocalyx shedding - potential as biomarkers in patients with lupus nephritis. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1251876. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1251876.
12. Teng Y.H., Aquino R.S., Park P.W. Molecular functions of syndecan-1 in disease. *Matrix Biol.* 2012; 31(1): 3-16. DOI: 10.1016/j.matbio.2011.10.001.
13. Luker J.N., Vigiola Cruz M., Carney B.C., Day A., Moffatt L.T., Johnson L.S., Shupp J.W. Shedding of the endothelial glycocalyx is quantitatively proportional to burn injury severity. *Ann. Burns Fire Disasters*. 2018; 31(1): 17-22. PMID: 30174566; PMCID: PMC6116655.
14. Shirai Y., Uwagawa T., Shiba H., Shimada Y., Horiuchi T., Saito N., Furukawa K., Ohashi T., Yanaga K. Recombinant thrombomodulin suppresses tumor growth of pancreatic cancer by blocking thrombin-induced PAR1 and NF- κ B activation. *Surgery*. 2017; 161(6): 1675-82. DOI: 10.1016/j.surg.2016.12.008.
15. Johansson P.I., Stensballe J., Rasmussen L.S., Ostrowski S.R. A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. *Ann. Surg.* 2011; 254(2): 194-200. DOI: 10.1097/SLA.0b013e318226113d.
16. Uchimido R., Schmidt E.P., Shapiro N.I. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit. Care*. 2019; 23(1): 16. DOI: 10.1186/s13054-018-2292-6.
17. Wei S., Gonzalez Rodriguez E., Chang R., Holcomb J.B., Kao L.S., Wade C.E. et al. Elevated syndecan-1 after trauma and risk of sepsis: a secondary analysis of patients from the pragmatic, randomized optimal platelet and plasma ratios (PROPPR) Trial. *J. Am. Coll. Surg.* 2011; 227(6): 587-95. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2018.09.003.
18. Rehm M., Bruegger D., Christ F., Conzen P., Thiel M., Jacob M., Chappell D. et al. Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation*. 2007; 116(17): 1896-1906. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.684852.
19. Giri H., Biswas I., Rezaie A.R. Thrombomodulin: A multifunctional receptor modulating the endothelial quiescence. *J. Thromb. Haemost.* 2024; 22: 905-14. DOI: 10.1016/j.jth.2024.01.006.
20. Zhou G., Liu J., Zhang H., Wang X., Liu D. Elevated endothelial dysfunction-related biomarker levels indicate the severity and predict sepsis incidence. *Sci. Rep.* 2022; 12(1): 21935. DOI: 10.1038/s41598-022-26623-y.
21. Van Dreden P., Rousseau A., Savoure A., Lenormand B., Fontaine S., Vasse M. Plasma thrombomodulin activity, tissue factor activity and high levels of circulating procoagulant phospholipid as prognostic factors for acute myocardial infarction. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2009; 20(8): 635-41. DOI: 10.1097/MBC.0b013e32832e05dd.
22. Nomura E., Kohriyama T., Kozuka K., Kajikawa H., Nakamura S., Matsumoto M. Significance of serum soluble thrombomodulin level in acute cerebral infarction. *Eur. J. Neurol.* 2004; 11(5): 329-34. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2004.00776.x.
23. Hanly A.M., Winter D.C. The role of thrombomodulin in malignancy. *Semin. Thromb. Hemost.* 2007; 33(7): 673-9. DOI: 10.1055/s-2007-991969.
24. Keyloun J.W., Le T.D., Pusateri A.E., Ball R.L., Carney B.C., Orfeo T. et al. Circulating syndecan-1 and tissue factor pathway inhibitor, biomarkers of endothelial dysfunction, predict mortality in burn patients. *Shock*. 2021; 56(2): 237-44. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001709.
25. Okamoto H., Muraki I., Okada H., Tomita H., Suzuki K., Takada C. et al. Recombinant antithrombin attenuates acute respiratory distress syndrome in experimental endotoxemia. *Am. J. Pathol.* 2021; 191(9): 1526-36. DOI: 10.1016/j.ajpath.2021.05.015.
26. Schlömmner C., Brandtner A., Bachler M. Antithrombin and its role in host defense and inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(8): 4283. DOI: 10.3390/ijms22084283.
27. Bagin V.A., Rudnov V.A., Korobko I.A., Veyn V.I., Astafeva M.N. Validation of prognostic indices in adult patients with burn injury. *Anestziologiya i reanimatologiya*. 2018; 3: 64-70. DOI: 10.17116/anaesthesiology201803164. (in Russian)
28. Papayan L.P., Bary'shev B.A. Features of the pathogenesis and diagnosis of DIC syndrome. Материалы 2 научно-практической конференции «Актуальные проблемы гемостазиологии». Архангельск: Северный государственный медицинский университет; 2002: 82-95. (in Russian)
29. Yoon J., Kym D., Hur J., Cho Y.S., Chun W., Yoon D. Longitudinal profile of routine biomarkers for mortality prediction using unsupervised clustering algorithm in severely burned patients: a retrospective cohort study with prospectively collected data. *Ann. Surg. Treat. Res.* 2023; 104(2): 126-35. DOI: 10.4174/ast.2023.104.2.126.
30. Martin L., Koczera P., Zechendorf E., Schuerholz T. The endothelial glycocalyx: new diagnostic and therapeutic approaches in sepsis. *Biomed. Res. Int.* 2016; 2016: 3758278. DOI: 10.1155/2016/3758278.
31. Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie*. 2010 Jan; 30(1):10-2, 14-6. PMID: 20162247.
32. Rahbar E., Cardenas J.C., Baimukanova G., Usadi B., Bruhn R., Pati

- S. et al. Endothelial glycocalyx shedding and vascular permeability in severely injured trauma patients. *J. Transl. Med.* 2015; 13: 117. DOI: 10.1186/s12967-015-0481-5.
33. Gonzalez Rodriguez E., Ostrowski S.R., Cardenas J.C., Baer L.A., Tomasek J.S., Henriksen H.H. et al. Syndecan-1: A Quantitative Marker for the Endotheliopathy of Trauma. *J. Am. Coll. Surg.* 2017; 225(3): 419-27. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2017.05.012.
34. Iba T., Levy J.H., Thachil J., Susen S., Levi M., Scarlatescu E. Communication from the scientific standardization committees of the international society on thrombosis and haemostasis on vascular endothelium-related biomarkers in disseminated intravascular coagulation. *J. Thromb. Haemost.* 2023; 21(3): 691-9. DOI: 10.1016/j.jtha.2022.11.032.
35. Lin J.J., Hsiao H.J., Chan O.W., Wang Y., Hsia S.H., Chiu C.H. Increased serum thrombomodulin level is associated with disease severity and mortality in pediatric sepsis. *PLoS One.* 2017; 12(8): e0182324. DOI: 10.1371/journal.pone.0182324.
36. Presnyakova V.I., Zagrekov E.A., Galova E.A., Pushkin A.S., Ashkinazi V.I., Kostina O.V. Diagnostic and prognostic significance of determining the components of the endothelial glycocalyx in patients with severe burns. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2022; 4: 121. DOI: 10.17513/spno.31966. (in Russian)
37. Yarimizu K., Nakane M., Onodera Y., Matsuuchi T., Suzuki H., Yoshioka M., Kudo M., Kawamae K. Prognostic value of antithrombin activity levels in the early phase of intensive care: a 2-center retrospective cohort study. *Clin. App. Thromb. Hemost.* 2023; 29: 1-9. DOI: 10.1177/10760296231218711.
38. Redkin I.V., Lopatin A.F., Skripkin Yu.V., Samoylenko V.V., Likhvantsev V.V. Determination of antithrombin levels allows predicting clinical outcomes of sepsis. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii.* 2018; 15(3): 41-6. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-3-41-46. (in Russian)