



№ 16 май 2007

КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор:

Эмануэль В. А., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Директор редакции:

Чердниченко Д. В.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А.

Адрес редакции:

**197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8**

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

evl@spmu.rssi.ru

consilium.journal@gmail.com

ejvcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован

в Северо-Западном
окружном межрегиональном
территориальном управлении
Министерства РФ по делам
печати, телерадиовещания
и средств массовых коммуникаций

Свидетельство о регистрации:

ПИ № 2-6476 от 21.03.2003

Учредитель:

**Отделение Ассоциации
Медицинской Лабораторной
Диагностики,
СПб Государственный
Медицинский Университет
им. акад. И. П. Павлова
(197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8)**

Оригинал-макет и верстка:

ООО «Издательско-
полиграфическая
компания «КОСТА»»,
тел. **(812) 445 10 02**

Отпечатано в типографии

ООО «ИПК БИОНТ»
199026, Санкт-Петербург,
Средний пр., д. 86
Тираж 1500 экз.
Заказ №

Уважаемые коллеги!

Наш журнал продолжает знакомить читателей с научно-практическими конференциями, которые проходят в Санкт-Петербурге.

В этом номере публикуются материалы Всероссийской конференции «Тромбозы в клинической практике: факторы риска, профилактика, терапия» (5–7 июня 2007 г.), подготовленной двумя общественными организациями и одним из ведущих медицинских ВУЗов России: Всероссийской ассоциацией специалистов по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А. В. Шмидта—Б. А. Кудряшова, Российской ассоциацией медицинской лабораторной диагностики и Санкт-Петербургским государственным медицинским университетом им. акад. И. П. Павлова. Объединение усилий и знаний специалистов из разных областей неслучайно для гемостазиологии. Нарушения свертывания крови с повышенной ее активацией и формированием тромбозов в разных отделах сосудистого русла являются в настоящее время проблемой номер один в мире, ведущей причиной смерти и инвалидизации больных. Значительные успехи в фармакологической профилактике и терапии этих состояний вселяют надежду в лечащих врачей и наших пациентов. Однако понимание механизмов активации свертывания крови и современные лабораторные возможности оценки этих механизмов заставляют все теснее спланировать ряды специалистов для лабораторной диагностики и врачей клинических специальностей для доклинического выявления дисбаланса прокоагулянтной/антикоагулянтной активности, наличия факторов риска тромбозов и решения вопросов их профилактики. Всероссийская ассоциация специалистов по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А. В. Шмидта—Б. А. Кудряшова представляет рекомендации по использованию скрининговых тестов в диагностике патологии гемостаза.

Во всем мире признано, что активное проведение в жизнь образовательных программ для врачей различных специальностей и пациентов, получающих антикоагулянты, существенно улучшает результаты терапии. В рамках конференции проводится «Школа профилактики и лечения тромбозов и эмболий», на которой освещаются проблемы гепарининдуцированной тромбоцитопении, использования новых групп препаратов и антитромбоцитарной терапии.

Присланные на конференцию работы свидетельствуют о том, что область знаний — клиническая и лабораторная гемостазиология — активно развивается в самых разных уголках России. В связи с проведением конференции желаем всем участникам здоровья, успехов в научной и практической работе, сохранения увлеченности и преданности проблемам гемостазиологии.

От имени выпускающих редакторов
профильных номеров журнала
профессор кафедры госпитальной терапии
СПбГМА им. И. И. Мечникова, зав. курсом клинической
лабораторной диагностики, д. м. н. **Т. В. Вавилова**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Афанасьев Борис Владимирович,
зав. кафедрой гематологии, трансфузиологии и трансплантации СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Гуревич Виктор Савельевич,
руководитель Центра атеросклероза и нарушений липидного обмена СПбГМА им. И. И. Мечникова, д. м. н., профессор

Дюк Вячеслав Анатольевич,
ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского института информатики и автоматизации РАН, д. т. н.

Зыбина Наталия Николаевна,
начальник НИО клинико-биохимических исследований Всероссийского Центра экстренной и радиационной медицины МЧС, д. б. н. (заместитель главного редактора)

Карпищенко Анатолий Иванович,
начальник кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, д. м. н., профессор

Петришев Николай Николаевич,
зав. кафедрой патофизиологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, з. д. н. РФ, академик МАНВШ, академик РАЕН, д. м. н., профессор

Сухоруков Владимир Сергеевич,
руководитель НИЛ общей патологии НИИ педиатрии и детской хирургии РАМН, главный специалист по лабораторной диагностике в педиатрии, д. м. н., профессор (заместитель главного редактора)

Тец Виктор Вениаминович,
зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, академик РАЕН, д. м. н., профессор

Шляхто Евгений Владимирович,
директор ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова», заведующий кафедрой факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, главный кардиолог Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального округа, вице-президент Всероссийского научного общества кардиологов, президент Российской антигипертензивной лиги, председатель Санкт-Петербургского научного общества кардиологов им. Г. Ф. Ланга, член-корр. РАМН, з. д. н. РФ, д. м. н., профессор

Эмануэль Владимир Леонидович,
заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор (главный редактор)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Вавилова Татьяна Владимировна,
профессор кафедры факультетской терапии СПбГМА им. И. И. Мечникова, д. м. н.

Калнер Андерш,
профессор кафедры клинической химии Каролинского Госпиталя, Стокгольм, Швеция, член бюро Международного Союза чистой и прикладной химии, д. м. н., профессор

Козлов Антон Владимирович,
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики СПбМАПО, д. м. н., профессор

Корячкин Виктор Анатольевич,
зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Мазуров Вадим Иванович,
зав. кафедрой терапии №1 им. Э. Э. Эйхвальда СПбМАПО, член-корр. РАМН, з. д. н. РФ, д. м. н., профессор

Меньшиков Вадим Владимирович,
руководитель научно-методического центра по лабораторной диагностике МЗ РФ, член-корр. РАЕН, з. д. н. РФ, д. м. н., профессор

Новик Виктор Иванович,
зав. лабораторией цитологии НИИ онкологии им. проф. М. Н. Петрова МЗ РФ, член Международной Академии цитологии, д. м. н.

Рыбакова Маргарита Григорьевна,
зав. кафедрой патологической анатомии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Сапрыгин Дмитрий Борисович,
президент Российской Ассоциации медицинской лабораторной диагностики, д. м. н., профессор

Сельков Сергей Алексеевич,
руководитель лаборатории иммунологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, член-корр. РАЕН, д. м. н., профессор

Смирнов Алексей Владимирович,
зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, директор НИИ нефрологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, вице-президент Всероссийского общества нефрологов, Председатель Ассоциации нефрологов и врачей гемодиализа Северо-Запада России, д. м. н., профессор

Соколовский Евгений Владиславович,
заведующий кафедрой дерматовенерологии клиники СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Стивен Хау Ян Вонг (Steven How Yan Wong),
Ph. D., DABCC (TC), FACS, председатель секции Протеомики и Молекулярной Патологии Американской Ассоциации Клинической Химии, США

Тогузов Руслан Тимофеевич,
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ФУВ РГМУ, д. м. н., профессор

Хоровская Лина Анатольевна,
доцент кафедры клинической лабораторной диагностики СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, к. м. н.

Содержание

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО

Профессор кафедры госпитальной терапии СПбГМА им. И. И. Мечникова, зав. курсом клинической лабораторной диагностики, д. м. н. <i>Т. В. ВАВИЛОВА</i>	1
Редакционная коллегия, редакционный совет	2

ПРЕДСТАВЛЯЕМ ЧЛЕНОВ РЕДКОЛЛЕГИИ:

Шляхто Евгений Владимирович	6
-----------------------------------	---

ТРОМБОЗЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ: ФАКТОРЫ РИСКА, ДИАГНОСТИКА, ТЕРАПИЯ

<i>Н. Н. Петрищев, А. В. Смирнов, И. Ю. Панина, А. Ш. Румянцев, М. А. Меншутина, Ф. А. Тугушева, В. В. Ачкасова, А. Е. Гаранина</i> ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОТЕЛИЯ НА РАННИХ СТАДИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК.	8
<i>Л. Д. Зубаирова, Д. М. Зубаиров</i> РОЛЬ ЛЕЙКОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ В АТЕРОГЕНЕЗЕ И ТРОМБООБРАЗОВАНИИ	10
<i>А. Ж. Карабаева, А. М. Есян, И. Г. Каюков</i> СОСТОЯНИЕ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ, СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК	20
<i>В. М. Шмелева, О. А. Смирнова, А. А. Гуржий, Е. В. Сливанкова, Л. П. Папаян</i> ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ НА УРОВЕНЬ ГОМОЦИСТЕИНА ПЛАЗМЫ.	26
<i>Ю. В. Первушин, И. В. Санникова, А. Д. Пасечников, Н. И. Ковалевич, И. В. Сивун, Д. А. Кислицкая</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА СМЕРТЕЛЬНОГО ИСХОДА.	31
<i>О. А. Смирнова</i> ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА	35
<i>А. В. Вавилова, В. В. Дорофейков, В. И. Иванов, Э. В. Кулешова</i> ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АСПИРИНУ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА	40
<i>Л. В. Васина</i> РОЛЬ АННЕКСИНА А5 И АНТИТЕЛ К АННЕКСИНУ А5 В РАЗВИТИИ ТРОМБОФИЛИИ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ ..	45
<i>В. И. Амосов, А. А. Сперанская, О. В. Лукина</i> МУЛЬТИСПИРАЛЬНАЯ РЕНТГЕНОВСКАЯ КОМПЬЮТЕРНО-ТОМОГРАФИЧЕСКАЯ АНГИОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ.	50
<i>Е. Е. Бобровская, В. Е. Кон, Е. А. Усова, Н. Н. Бутова, А. Э. Кутузова</i> РОЛЬ ДЕПРЕССИИ В РАЗВИТИИ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА	53
<i>С. И. Капустин, Н. Б. Салтыкова, В. Д. Каргин, Н. А. Воробьева, А. М. Панишина, В. М. Шмелева, М. Н. Блинов, Л. П. Папаян</i> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЗОМ ГЛУБОКИХ ВЕН	56

ТЕЗИСЫ

<i>В. В. Альфонсов, Е. В. Альфонсова, Н. В. Бочкарникова</i> РОЛЬ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА В РАЗВИТИИ ДВС-СИНДРОМА И НАРУШЕНИИ СТРУКТУРЫ СЕРДЦА	61
<i>А. В. Аршинов</i> АНТИФОСФОЛИПИДНЫЙ СИНДРОМ, ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ.	61
<i>З. С. Баркаган, А. П. Момот, Г. В. Сердюк, Л. П. Цывкина</i> РАЗРАБОТКА НОВОГО КОАГУЛЯЦИОННОГО АЛГОРИТМА ДИАГНОСТИКИ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА	62
<i>О. Л. Борисова, А. Д. Викулов, А. А. Баранов, Н. А. Лапкина</i> СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У ФИЗИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЛИЦ	64
<i>Л. И. Бурячковская, И. А. Учитель, А. Б. Сумароков, Е. Г. Попов</i> ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ К АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ	64

Содержание

<i>А. Ш. Бышевский, С. Л. Галян, С. В. Миневцев, А. В. Пустынников, А. Ю. Рудзевич, Г. А. Сулкарнаева, П. Я. Шаповалов, Е. М. Шаповалова, А. В. Шидин</i> ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ А, Е, С И Р НА УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТРОМБИН—ФИБРИНОГЕН, ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ТРОМБИНУ И ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЮ	65
<i>Н. В. Власова, Л. А. Соколова, Т. А. Воробьева</i> ПОКАЗАТЕЛИ ТРОМБОЭЛАСТОМЕТРИИ У ПАЦИЕНТОВ, ПРИНИМАЮЩИХ ДЕЗАГРЕГАНТЫ	65
<i>А. И. Гаевская, Н. Н. Бутова, Г. А. Белехов, А. Э. Кутузова</i> ОСОБЕННОСТИ ФИЗИЧЕСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА	67
<i>М. Е. Григорьева, Т. Ю. Оберган</i> АМИНОКИСЛОТА ГЛИЦИН И LYS-PRO-ARG-GLY: ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НА ФИБРИНОЛИТИЧЕСКУЮ И АНТИКОАГУЛЯНТНУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ	67
<i>А. А. Гуржий</i> ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ НА ФОНЕ ТРАНЗИТОРНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ	68
<i>А. Б. Добровольский, Е. В. Титаева, А. Н. Сторожилова, И. Н. Каримова</i> ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ ТЕРАПИИ АНТАГОНИСТАМИ ВИТАМИНА К: ДОСТИЖЕНИЯ И НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ	68
<i>А. Б. Добровольский, Ю. А. Федоткина, А. Л. Комаров, Е. А. Егорова, Е. В. Рябыш, М. В. Виценья, Е. В. Титаева, А. Н. Сторожилова, И. И. Староверов, Е. П. Панченко</i> Д-ДИМЕР У БОЛЬНЫХ АТЕРОТРОМБОЗОМ: СВЯЗЬ С ТЕЧЕНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ	69
<i>В. В. Дорофейков, В. И. Иванов, А. В. Вавилова, Э. В. Кулешова</i> ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ИБС У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ	70
<i>С. О. Дружинин, В. А. Красавин</i> УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ТРОМБОЗОВ У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЭМБОЛИЯМИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ	70
<i>А. П. Ельчанинов, А. В. Артющкин, Т. Н. Енькина, В. К. Волков, И. В. Сяляхина, Н. М. Белова, Л. И. Крамаренко, Ю. Н. Чайковский, А. М. Шапоров</i> РАДИОИЗОТОПНАЯ И СОНОГРАФИЧЕСКАЯ ПАТТЕРНИЗАЦИЯ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА ПРИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ БОЛЕЗНИ (ЦВБ)	71
<i>Л. Д. Зубаирова, Д. М. Зубаиров, И. Г. Мустафин, Г. Ю. Свинтенко, И. А. Андрушко</i> ЛИПИДНЫЕ РАФТЫ В МИКРОВЕЗИКУЛАХ ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ФЕНОМЕНЕ ШВАРЦМАНА	72
<i>В. А. Кобилянская, Е. В. Сливанкова, Н. К. Николаева, Н. И. Мазепова</i> ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОК С ПРЕДМЕНСТРУАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ ПРИ ВВЕДЕНИИ КОНТРАЦЕПТИВНОГО ВЛАГАЛИЩНОГО КОЛЬЦА	73
<i>К. Л. Крышень, А. Н. Столярова, Е. А. Баженова, О. А. Беркович, О. В. Сироткина</i> АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ТРОМБОЦИТАРНОГО РЕЦЕПТОРА КОЛЛАГЕНА У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНФАРКТ МИОКАРДА, И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ	74
<i>Е. С. Лапикова, Н. Н. Дрозд, А. С. Толстенков, В. А. Макаров, Т. Н. Звягинцева</i> ИНГИБИРОВАНИЕ ТРОМБИНА И ФАКТОРА Ха ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ФУКОИДАНАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ <i>FUCUS EVANESCENS</i>	74
<i>Н. А. Лапкина, А. А. Баранов, В. Г. Барскова, Н. Е. Абайтова, И. А. Якунина</i> КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АНТИГЕНА ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА ПРИ ПОДАГРЕ	75
<i>Г. Я. Левин, И. Ю. Ежов, Л. Н. Соснина, А. А. Корыткин, Б. Ю. Белоусов</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕКСАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА	76
<i>Н. Ю. Левшин, А. А. Баранов, А. В. Аршинов, Н. Е. Абайтова, Н. А. Лапкина</i> ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОЙ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ	77
<i>Л. В. Лютова, В. Б. Кошелев, М. А. Карабасова</i> ГЕМОСТАЗ И ФИБРИНОЛИЗ ПРИ АУДИОГЕННОМ ШОКЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	77
<i>Л. А. Ляпина, В. Е. Пасторова, А. М. Ульянов, Т. Ю. Оберган</i> ЗНАЧЕНИЕ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА И ЕГО КОМПЛЕКСА С ГЕПАРИНОМ В ВОССТАНОВЛЕНИИ ФУНКЦИИ ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЕЕ ДЕПРЕССИИ	78

Содержание

Ю. Е. Мальчевский, М. Д. Мальчевская, В. В. Потылицына ПРОГНОЗИРОВАНИЕ, ЛЕЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ РЕОЛОГИИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ	78
А. Н. Мамаев, Д. В. Федоров, Н. В. Вострикова, К. М. Бишевский, Е. Е. Климова СЛУЧАЙ ДИСПЛАЗМИНОГЕНЕМИИ У БОЛЬНОГО С РАННИМ РАЗВИТИЕМ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ТРОМБОЗОВ.	79
А. Н. Мамаев, Д. В. Федоров, Н. В. Вострикова, Е. Е. Климова, К. М. Бишевский, О. Г. Симонова, Г. А. Романова, О. В. Беспалова, Д. Г. Морозов ЧАСТОТА ГИПЕРПРОДУКЦИИ КОАГУЛЯЦИОННЫХ ФАКТОРОВ VIII И IX У БОЛЬНЫХ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ	80
А. П. Момот К ВОПРОСАМ ОРГАНИЗАЦИИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА В УЧРЕЖДЕНИЯХ ПЕРВИЧНОГО ЗВЕНА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ	80
Я. В. Панюткина, В. А. Кобилянская АКТИВНОСТЬ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ (АНТИТРОМБИНА И ПРОТЕИНА С) У ДЕТЕЙ С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ С МИНИМАЛЬНЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ (НСМИ) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ	81
Д. М. Пучиньян, Г. В. Коршунов, М. В. Гиркало, С. Ш. Шахмартова АДАПТОГЕН СИСТЕМЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ — ТИОСУЛЬФАТ НАТРИЯ	82
В. В. Сабельников, О. В. Злобин, А. И. Прокопец, Е. К. Шулепова ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЭМБОЛИЗМА У ОРТОПЕДИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ХВН.	83
Н. Н. Самсонова, Л. Г. Климович, М. Г. Плющ, Н. С. Фокина, С. И. Бабенко, М. Р. Муратов, И. З. Беридзе РЕЗУЛЬТАТЫ СРЕДНЕОТДАЛЕННОГО КОНТРОЛЯ МНО У ПАЦИЕНТОВ С МЕХАНИЧЕСКИМИ ПРОТЕЗАМИ КЛАПАНОВ СЕРДЦА	84
О. И. Светлицкая, Е. Г. Оганова, Г. В. Илюкевич КОАГУЛЯЦИОННЫЕ НАРУШЕНИЯ КАК ЧАСТЬ СИНДРОМА СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ПЕРИТОНИТОМ.	85
О. В. Сироткина, О. А. Каткова, П. С. Лагута, А. Н. Столярова, Е. Л. Железняк, А. Б. Добровольский, Е. П. Панченко АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИБС, ПРИНИМАЮЩИХ АСПИРИН, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ РЕЦЕПТОРА ФИБРИНОГЕНА (PLA1/A2 GRIIIA) И ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ 1 (A-842G COX-1).	87
Е. Г. Смертина, В. В. Потылицына, В. Г. Ионова ОЦЕНКА АГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ У БОЛЬНЫХ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА	88
Н. В. Соловьева, Н. Н. Бурова МНОГОСОСУДИСТОЕ ПОРАЖЕНИЕ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ	88
Е. Г. Тищенко, А. Д. Турашев, А. В. Максименко ПОДХОДЫ К ПРЕДУПРЕЖДЕНИЮ РЕСТЕНОЗОВ ПОСЛЕ АНГИОПЛАСТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ ЛОКАЛЬНОГО УГЛЕВОДНОГО ОКРУЖЕНИЯ ЗОНЫ СОСУДИСТОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ	89
С. А. Толстенков, Н. Н. Дрозд, В. А. Макаров, Г. Е. Банникова, В. П. Варламов БИОСПЕЦИФИЧНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ КОМПЛЕКСОВ МЕЖДУ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ГЕПАРИНАМИ И ХИТОЗАНАМИ.	90
А. Д. Турашев, Е. Г. Тищенко, А. В. Максименко СТАБИЛИЗАЦИЯ ГИАЛУРОНИДАЗЫ ДЛЯ СОКРАЩЕНИЯ РАЗМЕРА ПОРАЖЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА	90
Н. А. Филиппова, Л. А. Каминская МАРКЕРЫ NO-СИНТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ	91
А. И. Шанская, Л. П. Папаян, Н. Н. Старицына ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА КАЧЕСТВА АПТВ-НАБОРОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ГЕПАРИНА В ПЛАЗМЕ.	92
Н. П. Шилкина ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ТРОМБОЗОВ ПРИ СИСТЕМНЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	92
А. В. Безруков, Е. Н. Ованесов НОВЫЕ ПРОГРАММИРУЕМЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА	94



Представляем членов редколлегии
научно-практического журнала
«Клинико-лабораторный консилиум»

Шляхто Евгений Владимирович
Директор ФГУ «Федеральный центр сердца, крови
и эндокринологии им. В. А. Алмазова»,
заведующий кафедрой факультетской терапии
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Евгений Владимирович Шляхто, 1954 года рождения, окончил 1 Ленинградский медицинский институт им. акад. И. П. Павлова в 1977 году. По окончании института был оставлен клиническим ординатором на кафедре факультетской терапии, а затем прошел путь от ассистента до заведующего этой кафедрой.

Научную деятельность Е. В. Шляхто начал уже в студенческом научном обществе при кафедре факультетской терапии. В 1983 году он защитил кандидатскую диссертацию, а в 1992 году — докторскую диссертацию.

В целой серии выполненных им работ было установлено значение барорефлекторных нарушений регуляции кровообращения в возникновении и прогрессировании гипертонической болезни. Результаты этих исследований отражены в монографии «Пограничная артериальная гипертензия» (1992 г.) и были зарегистрированы как открытие (диплом № 116, 1999 г.).

Заслуживает внимания серия исследований профессора Е. В. Шляхто, посвященная роли почек в патогенезе артериальной гипертензии. В этих работах установлено раннее вовлечение почек в патологический процесс, что проявляется повышением почечного сосудистого сопротивления, снижением способности почек к синтезу депрессорных веществ и увеличением продукции прессорных веществ, усилением реабсорбции натрия и другими нарушениями. В 1999 году результаты этих исследова-

ний были суммированы им в книге «Почки и артериальная гипертензия».

В последние годы на кафедре под руководством Евгения Владимировича изучается метаболический сердечно-сосудистый синдром, в частности роль гиперинсулинемии в патогенезе нарушений метаболизма липидов, в повышении артериального давления, оценивается эффективность и механизм действия различных антигипертензивных препаратов. С 1997 года в институте сердечно-сосудистых заболеваний на кафедре начаты молекулярно-генетические исследования в кардиологии.

Всего по различным вопросам кардиологии Е. В. Шляхто опубликовано более 250 научных работ, в том числе 13 книг и учебников. Он является соавтором руководства по внутренним болезням — «Болезни органов кровообращения» (ред. Академик РАН и РАН Е. И. Чазов, 1997) и учебника «Внутренние болезни».

Евгений Владимирович уделяет большое внимание подготовке научных кадров и организации научных исследований. Является руководителем студенческого научного общества при кафедре, под его руководством выполнены и защищены 48 кандидатских и 12 докторских диссертаций.

Научно-организационная деятельность Е. В. Шляхто в полной мере проявилась на посту проректора по науке СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, который он занимал более 8 лет.

Е. В. Шляхто бережно сохраняет традиции кафедры факультетской терапии, на которой в разные годы работали члены нашей академии, академики Г. Ф. Ланга, А. Л. Мясников, М. Д. Тушинский, В. Г. Баранов, В. А. Алмазов.

Он является директором ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова». Значительное место в деятельности профессора Е. В. Шляхто занимает общественно-научная работа: он вице-президент Всероссийского научного общества кардиологов, президент Российской антигипертензивной лиги, председатель Санкт-Петербургского научного общества кардиологов им. Г. Ф. Ланга. Е. В. Шляхто был инициатором проведения и председателем оргкомитетов двух крупнейших кардиологических форумов — Российского национального конгресса кардиологов (2002) и Конгресса ассоциации кардиологов стран СНГ (2003), впервые проходивших в Санкт-Петербурге. Е. В. Шляхто является главным редактором журналов «Артериальная гипертензия» и «Вестник аритмологии», входит в состав редакционных коллегий ряда центральных кардиологических журналов.

Главный кардиолог Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального округа, Е. В. Шляхто уделяет большое внимание развитию кардиологической службы региона, направленному на снижение сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности населения Северо-Запада РФ.

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РОССИИ
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. АКАД. И. П. ПАВЛОВА
ВСЕРОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ ТРОМБОЗОВ, ГЕМОРРАГИЙ
И ПАТОЛОГИИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ИМ. А. В. ШМИДТА—Б. А. КУДРЯШОВА
РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
КОМИТЕТ ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ ПРАВИТЕЛЬСТВА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**

**Всероссийская конференция с международным участием
ТРОМБОЗЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ:
ФАКТОРЫ РИСКА, ДИАГНОСТИКА, ТЕРАПИЯ
5—7 июня 2007 года**

**Конференция проводится по плану научно-практических мероприятий МЗ и СР на 2007 г.
(п. 82 приказа МЗ и СР РФ № 884/91/268 от 29.12.06) и в соответствии с приказом
МЗ и СР № 192 от 26.03.2007 г.**

На конференции обсуждаются научные и практические проблемы:

1. Биохимия и патофизиология гемокоагуляции;
2. Атеротромбоз как основа осложнений ишемической болезни сердца, мозга, периферических артерий; его прогнозирование, ранняя диагностика, лечение;
3. Диагностика, терапия и профилактика венозного тромбоза;
4. Антифосфолипидный синдром;
5. Метаболический синдром, артериальная гипертензия и тромбозы;
6. Тромбозы у женщин;
7. Постоянное внутрисосудистое свертывание — диссеминированное внутрисосудистое свертывание;
8. Антитромботическая терапия, фармакогенетика антитромботических средств;
9. Тромбоз при остром инфаркте миокарда, инсульте, тромбозах периферических артерий;
10. Хирургическое лечение тромбозов.

**В рамках работы конференции 7 июня 2007 г. будет проведена Школа профилактики
и лечения тромбозов и эмболий для врачей клинических специальностей.**

В работе Школы примут участие ведущие специалисты по антитромботической терапии.

Материалы конференции публикуются в научно-практическом журнале «Клинико-лабораторный консилиум» (№№ 16 и 17). Выпускающие редакторы номеров:

Е. В. Шляхто — директор ФГУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова» Росздрава, главный кардиолог Росздрава в СЗФО, вице-президент ВНОК, президент «Антигипертензивной лиги», з. д. н. РФ, член-корр. РАМН, профессор;

Н. Н. Петрищев — председатель Санкт-Петербургского научного общества патофизиологов, зав. кафедрой патологической физиологии СПбГМУ им. И. П. Павлова, академик РАЕН, профессор;

Т. В. Вавилова — вице-президент Всероссийской Ассоциации по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудистой стенки им. А. В. Шмидта—Б. А. Кудряшова, профессор кафедры госпитальной терапии СПбГМА им. И. И. Мечникова.

Срок подачи печатных работ по теме конференции — 10 июня 2007 г.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОТЕЛИЯ НА РАННИХ СТАДИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Н. Н. ПЕТРИШЕВ, А. В. СМИРНОВ, И. Ю. ПАНИНА, А. Ш. РУМЯНЦЕВ, М. А. МЕНШУТИНА,
Ф. А. ТУГУШЕВА, В. В. АЧКАСОВА, А. Е. ГАРАНИНА
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

Резюме. Дисфункция эндотелия является начальным этапом развития атеросклероза. Механизмы ее развития продолжают активно изучаться. Цель исследования — изучение взаимосвязи вазомоторных нарушений микроциркуляторного русла сосудов кожи и уровня VCAM-1 у больных ХБП. Обследовали 89 больных ХБП 1–3 стадий, из них 32 мужчины и 54 женщины, в возрасте $41,2 \pm 1,4$ лет без клинических проявлений атеросклероза. Средняя скорость клубочковой фильтрации (рассчитывали по формуле MDRD) в группе составила $73,8 \pm 2,4$ мл/мин. У всех больных выявлена дислипидемия, а также нарушение эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатаций.

Выявлено значимое влияние артериальной гипертензии и скорости клубочковой фильтрации на уровень VCAM-1. Уровень VCAM-1 коррелировал со степенью нарушения эндотелий-независимой вазодилатации.

Ключевые слова: атеросклероз, хроническая болезнь почек, эндотелиальная дисфункция, VCAM-1.

FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENDOTHELIUM AT EARLY STAGES OF CHRONIC KIDNEY DISEASE

N. N. PETRISHCHEV, A. V. SMIRNOV, I. YU. PANINA, A. SH. RUMYANTSEV, M. A. MENSHUTINA,
F. A. TUGUSHEVA, V. V. ACHKASOVA, A. E. GARANINA
State Educational Institution of Higher Professional Education
“Saint-Petersburg State I. P. Pavlov Medical University”, Saint-Petersburg

Summary. The dysfunction of endothelium is the initial stage of atherosclerosis.

Its mechanisms are still being investigated. The aim of the study is to inspect the interrelations between microvascular vasomotor disorders and the level of VCAM-1 in patients with chronic kidney disease (CKD).

There were investigated 89 patients with CKD 1–3 stages: in 32 men and 54 women at age 41.2 ± 1.4 years without clinical manifestations of atherosclerosis. The mean glomerular filtration rate (calculated with MDRD formula) in group was 73.8 ± 2.4 ml/min. Dyslipidemia and disturbances of endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatations were revealed in all patients.

The significant effect of arterial hypertension and glomerular filtration rate on the level of VCAM-1 was found. The level of VCAM-1 correlated with the degree of disturbances of endothelium-independent vasodilatation.

Key words: atherosclerosis, chronic kidney disease, endothelial dysfunction, VCAM-1.

Термин «хроническая болезнь почек» (ХБП) концентрирует внимание исследователя в первую очередь на состоянии функции пораженного органа. Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что снижение скорости клубочковой фильтрации является независимым фактором риска развития атеросклероза [1]. Одно из его клинических проявлений, а именно ишемическая болезнь сердца — наиболее частая причина смерти при ХБП.

Следовательно, важность диагностики атеросклеротического поражения коронарных артерий у больных с патологией почек не вызывает сомнений. С этой целью используется большое количество инвазивных и неинвазивных методов обследования. «Золотым стандартом» остается коронарография, однако ее выполнение при нарушенной функции почек небезопасно. Поэтому не прекращаются поиски таких показателей, которые мог-

ли бы послужить основанием для индивидуализации терапевтических мероприятий по профилактике и лечению атеросклероза у больных ХБП.

В настоящее время общепризнано, что пусковым звеном инициации атеросклероза является дисфункция эндотелия. Показано, что дисфункция эндотелия играет важную роль в развитии ремоделирования сосудов, тромбофилии, активации иммунокомпетентных клеток крови, а также системы цитокинов. Установлено, что клетки эндотелия в ответ на воздействие интерлейкина-1 и TNF- α усиливают синтез VCAM-1. Экспрессия VCAM-1 на поверхности активированного эндотелия запускает цепь реакций, вызывающих его дисфункцию. Показано повышение уровня VCAM-1 при хронической почечной недостаточности у детей, который был сопоставим с уровнем данного маркера эндотелиальной дисфункции у взрослых пациентов с острым коронар-

ным синдромом [2, 3]. Это может приводить к нарушению регуляции сосудистого тонуса при патологии почек [4, 5].

Цель исследования: изучение взаимосвязи вазомоторных нарушений микроциркуляторного русла сосудов кожи и уровня VCAM-1 у больных ХБП.

Материалы и методы исследования. Обследовали 89 больных ХБП 1–3 стадий, из них 32 мужчины и 54 женщины, в возрасте $41,2 \pm 1,4$ лет без клинических проявлений атеросклероза. Средняя скорость клубочковой фильтрации (рассчитывали по формуле MDRD) в группе составила $73,8 \pm 2,4$ мл/мин. У всех больных определяли толщину комплекса интима-медиа сонных артерий, суточный профиль артериального давления, параметры липидограммы, а также уровень VCAM-1 иммуноферментным методом. Реактивность сосудов микроциркуляторного русла кожи оценивали методом высокочастотной ультразвуковой доплерографии с использованием электрофореза ацетилхолина (эндотелий-зависимая вазодилатация) и нитроглицерина (эндотелий-независимая вазодилатация).

Результаты и их обсуждение. У всех больных выявлена дислипидемия. Уровень холестерина составил $6,9 \pm 0,4$ ммоль/л, липопротеидов высокой плотности — $1,3 \pm 0,1$ ммоль/л, липопротеидов низкой плотности — $4,8 \pm 0,3$ ммоль/л, липопротеидов очень низкой плотности — $0,8 \pm 0,1$ ммоль/л, триглицеридов — $1,8 \pm 0,2$ ммоль/л, коэффициент атерогенности — $4,3 \pm 0,3$. Толщина комплекса интима-медиа на левой общей сонной артерии составляла $0,73 \pm 0,03$ мм, на правой общей сонной артерии — $0,75 \pm 0,03$ мм. Можно сделать вывод о том, что у обследованных пациентов с ХБП имелась «биохимическая» стадия атеросклероза.

Среднее систолическое артериальное давление днем составляло $127,5 \pm 2,6$ мм рт. ст., ночью — $114,2 \pm 2,8$ мм рт. ст., диастолическое артериальное давление днем — $76,7 \pm 1,8$ мм рт. ст., ночью — $67,4 \pm 2,1$ мм рт. ст. Среди обследованных 46% были нондиперами и 54% — диперами.

Уровень VCAM-1 колебался от 9,8 до 2373,8 нг/мл. По данным корреляционного анализа, выявлена взаимосвязь между концентрацией VCAM-1 и средним артериальным давлением днем ($r = +0,61$, $p = 0,006$) и средним артериальным давлением ночью ($r = +0,68$, $p = 0,001$). Достоверных взаимосвязей между VCAM-1 и пульсовым артериальным давлением в дневное и ночное время не выявлено.

В пробе с нитроглицерином у здоровых лиц на 3-й минуте достигается максимум прироста объемной скорости кровотока. У больных ХБП с нарушенной амплитудой вазодилаторного ответа в пробе с нитроглицерином, т. е. не достигших нормального прироста скорости объемного кровотока на 3-й минуте, концентрация VCAM-1 в крови оказалась более высокая, по сравнению с больными с нормальной амплитудой ответа $p < 0,01$. Несмотря на то, что у 34% больных были выявлены

признаки нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации в пробе с ацетилхолином, взаимосвязи между концентрацией VCAM-1 и амплитудой вазодилаторного ответа в пробе с ацетилхолином не выявлено.

При проведении однофакторного ковариационного анализа в качестве зависимой переменной использовали уровень VCAM-1, а в качестве независимых переменных — скорость клубочковой фильтрации и степень максимального прироста объемной скорости кровотока в пробе с нитроглицерином. Выявлено значимое влияние только скорости клубочковой фильтрации на уровень VCAM-1, $p < 0,03$.

Множественный пошаговый регрессионный анализ с использованием в качестве зависимой переменной концентрации VCAM-1, а в качестве независимых переменных — скорости клубочковой фильтрации и среднего систолического артериального давления показал, что среднее систолическое артериальное давление является более мощным предиктором концентрации VCAM-1 ($R^2 = 0,372$, $F = 6,51$, $p < 0,02$).

В ходе нашего исследования выявлено, что артериальная гипертензия и величина скорости клубочковой фильтрации менее 75 мл/мин являются двумя независимыми предикторами дисфункции эндотелия, так как это сопровождается повышением уровня VCAM-1 и нарушением эндотелий-независимой вазодилатации на доклинической стадии атеросклероза у больных ХБП.

Таким образом, у больных ХБП выявлено нарушение эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации в сочетании с нарушением процессов адгезии, что свидетельствует о развитии микроциркуляторных нарушений уже на ранних стадиях ХБП. Эндотелиопротекция может способствовать снижению риска развития сердечно-сосудистых осложнений у больных ХБП и своевременной кардиопротективной терапии.

Литература

1. Annuk M., Zilmer M., Fellstrom B. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure: Impact on cardiovascular disease // *Kidney International*. — 2003. — Vol. 63, Suppl. 84. — P. 50–54.
2. Musial K., Zwolinska D., Polak-Jonkisz D., Berny U., Szprynger K., Szczepanska M. Serum VCAM-1, ICAM-1, and L-selectin levels in children and young adults with chronic renal failure // *Pediatr. Nephrol.* — 2005. — Vol. 20, N 1. — P. 52–55.
3. Васина Л. В. Маркеры апоптоза и дисфункции эндотелия при остром коронарном синдроме // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2004. — Т. 4, № 12. — С. 5–10.
4. Kuvin J. T., Patel A. R., Sliney K. A. et al. Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2001. — Vol. 38. — P. 1843–1849.
5. Bolton C. H., Downs L. G., Victory J. G. G. et al. Endothelial dysfunction in chronic renal failure: role of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2001. — Vol. 16. — P. 1189–1197.



РОЛЬ ЛЕЙКОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ В АТЕРОГЕНЕЗЕ И ТРОМБООБРАЗОВАНИИ

Л. Д. ЗУБАИРОВА, Д. М. ЗУБАИРОВ

Казанский государственный медицинский университет

Резюме. Тканевой фактор является главным инициатором свертывания крови и медиатором воспаления и ангиогенеза. Согласно недавно полученным доказательствам преформированный и экспрессируемый при индукции белка тканевой фактор обнаруживается в форменных элементах крови и их микровезикулах. Экспрессия моноцитами и нейтрофилами требует активации транскрипции гена тканевого фактора. С помощью микровезикул тканевой фактор может переноситься на тромбоциты и их микровезикулы. Получены данные о высоком содержании тканевого фактора в эозинофилах. С помощью микровезикул тканевой фактор собирается в местах повреждения сосудистой стенки, где преодолевается концентрационный барьер для инициирования тромбообразования.

Для выделения микровезикул применяются ультрацентрифугирование, ультрафильтрация и электрофорез, при помощи которого они оказываются во фракции β -липопротеинов. Для их подсчета в последнее время все чаще используют проточную цитометрию. После унификации методы исследования микровезикул в крови должны найти широкое применение для суждения о здоровье человека.

Ключевые слова: микровезикулы, лейкоциты, моноциты, нейтрофилы, лимфоциты, эозинофилы.

LEUKOCYTES AND LEUKOCYTE MICROVESICLES IN ATHEROGENESIS AND THROMBOSIS

L. D. ZUBAIROVA, D. M. ZUBAIROV

Kazan State Medical University

Summary. Tissue factor (TF) is known as the primary initiator of blood coagulation as well as the mediator of inflammation and angiogenesis. It has been recently demonstrated that preformed tissue factor is expressed on blood cells and their membrane-derived microvesicles. Exposure of the tissue factor on monocytes and neutrophils is the result of TF gene transcription. Eosinophils were recently shown to have high content of preformed TF. It then can be transmitted through microvesicles to platelets and their microvesicles. These findings suggest a mechanism by which all of the membrane-bound reactions of the coagulation system can be restricted to the site of vessel injury and the surface of activated platelets, where the concentration of the TF becomes efficient for thrombus formation. Cell-derived microvesicles can be detected by a variety of methods or combinations of them — ultracentrifugation, ultrafiltration, electrophoresis, immunoelectrophoresis. Flow cytometry is widely used for measuring microvesicles. There is a pressing need to hammer out reference standard methods, as it is likely that microvesicles analysis will soon enter the mainstream of clinical testing.

Key words: microvesicles, leukocytes, monocytes, neutrophils, lymphocytes, eosinophils.

В 1973 году нам удалось обнаружить, что гиперкоагулемическая реакция вызывается отторжением в кровь небольших фрагментов клеточных мембран [1]. Причем не только быстрые, кратковременные физиологические ответы системы свертывания крови характерные для гиперадреналинемии и острой кровопотери, но и длительные, хронические, как, например, во время гиперхолестеринемии и эндотоксинемии, имеют в своей основе микровезикулярные клеточные реакции.

Только получив экспериментальное подтверждение универсальности этого механизма клеточной реакции при экспериментальном инфаркте миокарда у собак [2], были проведены наблюдения за больными с ише-

мической (коронарной) болезнью сердца в клинике проф. Л. А. Лушниковой [3]. Затем последовали наблюдения за беременными, страдающими гестозом и резус-конфликтом, в клиниках акушерства и гинекологии проф. Л. А. Козлова и Б. Г. Садыкова [4] и при травмах мозга в нейрохирургической клинике проф. Х. М. Шульмана [5]. Полученные результаты позволяют считать, что процесс отторжения фрагментов клеточных мембран протекает как в физиологических условиях, так и при многих заболеваниях. Его интенсивность кратковременно меняется под влиянием однократных стрессорных агентов. Более существенное усиление происходит при гипоксии и острых инфекциях. Длительные патогенные

воздействия приводят к хроническому усилению микровезикуляции. На основании этих наблюдений удалось установить закономерности, которые позволили министерству здравоохранения РФ в 1987 году выпустить методические рекомендации «Способ оценки тромбопластинемии по определению активности маркерного фермента 5'-нуклеотидазы». Тромбопластинемия — циркуляция тканевого фактора в крови. Несколько лет тому назад мы опубликовали обзоры наших исследований в этой области [6].

К этому времени подобные исследования широко стали выполняться и за рубежом. Наиболее интересные работы в этой области посвящены механизму отторжения фрагментов клеточных мембран — микровезикул (М), называемых еще эктосомами или микрочастицами (последнее, на наш взгляд, неконкретно), и внекоагуляционному значению этого процесса. Обзору некоторых из этих исследований, касающихся лейкоцитов, посвящена настоящая статья. Мы специально избегаем рассмотрения роли эндотелиальных клеток, так как она уже получила освещение в работе Н. Н. Петрищева [7].

Отделение М является неотъемлемой частью процесса мембранного ремоделирования, при котором нарушается асимметричное распределение основных фосфолипидов (ФЛ) между двумя листками наружной клеточной мембраны. В состоянии покоя фосфолипиды плазматической мембраны динамически распределены асимметрично таким образом, что большинство аминокислотных остатков — фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ), т. е. липиды, содержащие свободную аминогруппу, — расположены во внутреннем листке бислоя, а холинсодержащие фосфолипиды сосредоточены в наружном листке [8]. Асимметрия поддерживается вопреки соответствующим концентрационным градиентам активным АТФ-зависимым процессом [9, 10]. Это позволяет заключить, что она является крайне необходимой, нормируемой клеточной характеристикой, обеспечивающей структурную автономность клетки и проявление ею функциональной активности. Размещение фосфолипидов в специфических участках мембраны необходимо для передачи сигнальных каскадов, сохранения формы клеток, гемостаза. Аминофосфолипиды вовлечены во множество процессов от дифференцировки до клеточной смерти [11]. Основные доказательства мембранной асимметрии фосфолипидов были получены на эритроцитах человека.

Различают, по меньшей мере, три вида активности, присущей белкам, регулирующим распределение липидов в мембранах. Во-первых, флиппазная (аминофосфолипидтранслоказная), поощряющая направленный внутрь транспорт липидов. Во-вторых, флоппазная, содействующая устремленной наружу миграции липидов. И в третьих, скрамблазная, перемешивающая липиды между слоями. В то время как две первые активности создают и поддерживают мембранную фосфолипидную

Сокращения

ИЛ	— интерлейкин
М	— микровезикулы
ТФ	— тканевой фактор
ФНО- α	— фактор некроза опухолей α
ФС	— фосфатидилсерин
ФХ	— фосфатидилхолин
ФЭ	— фосфатидилэтаноламин
ЭК	— эндотелиальные клетки
CD	— кластер дифференциации
CD40L	— лиганд CD40
c-Jun	— член семейства фактора транскрипции AP-1
ERK1	— внеклеточными сигналами регулируемая киназа
FAS	— поверхностный антиген, надсемейство рецепторов фактора некроза опухоли
ICAM-1	— межклеточная молекула адгезии-1
JNK1	— c-Jun N-концевая протеинкиназа 1
MIF	— миграцию ингибирующий фактор
MCP-1	— МХБ — макрофагальный хемотаксический белок
MIP	— макрофагальные воспалительные белки
MMPs	— матриксные металлопротеиназы
PAF	— фактор активации тромбоцитов
PAFR	— рецептор PAF
PSGL	— гликопротеиновый лиганд Р-селектина
P2X ₇	— разновидность пуринорецепторов
RANTES	— белковый хемоаттрактант тромбоцитов и Т-клеток
VCAM-1	— сосудистая клеточная молекула адгезии-1

асимметрию, скрамблазная активность приводит к ее коллапсу. Перемешивание липидов с сопутствующим обнажением ФС на наружной поверхности сопровождается эпизодами активации, влекущие за собой поступление Ca^{2+} в цитоплазму, при этом активируется скрамблаза и одновременно подавляется активность аминокислотных фосфолипидтранслоказы, в результате чего Ca^{2+} -зависимая потеря фосфолипидной асимметрии не исправляется [12]. Появление ФС на наружном листке является также признаком клеток, подвергающихся апоптозу, и тем самым клеймом для их поглощения и удаления посредством фагоцитоза [13, 14]. Одним из характерных признаков апоптоза и некроза является блеббинг цитоплазматической мембраны. Он развивается, как правило, в начальной стадии клеточного повреждения и носит при этом обратимый характер [15]. Перемешивание мембранных фосфолипидов обычно сопровождается направленное наружу выпячивание клеточной мембраны и последующее отделение микровезикул [16–18]. Для сливания микровезикул требуются и перемешивание липидов плазматической мембраны и деградация бел-

ков цитоскелета под действием Ca^{2+} -зависимых кальпаинов.

Помимо поперечной, существует планарная (латеральная) асимметрия распределения липидов, образующих разнообразные «плоты» (рафты) в открытом море поверхности мембраны [19]. Липидные рафты представляют собой мембранные микродомены, которые обогащены холестерином и гликозилфосфолипидами. Они вовлечены в такие разные процессы, как передача сигналов, эндоцитоз и перенос холестерина. Разнообразие функций, по-видимому, соответствует разнообразию состава рафтов, как белкового, так и липидного.

Обогащенные сфинголипидами рафты сосуществуют с доменами, богатыми фосфолипидами, которые упакованы в более свободном состоянии. В присутствии холестерина в смесях фосфолипид/сфинголипид требуется меньше сфинголипидов для разделения фаз, чем в их отсутствии [20]. Этим объясняется, почему удаление холестерина может разрушать рафты и влиять на их функции. Эти упорядоченные микродомены охватывают приблизительно 10% общей поверхности клетки, их величина зависит от типа клетки, содержания сфинголипидов и холестерина, состояния клеточной активности. Каждый из рафтов в неактивированной клетке содержит приблизительно 3500 молекул сфинголипидов и 10–20 молекул белка [21]. Одним из первых классов белков, которые служат меткой липидных рафтов, стали белки, имеющие гликозилфосфатидилинозитольный якорь [22]. Рафты способны к латеральной диффузии и могут объединяться, формируя более крупные структуры.

Мы в своих исследованиях еще с 1973 г. в качестве маркера отделения фрагментов от цитоплазматических мембран использовали экто-5'-нуклеотидазу (CD73). Этот фермент (КФ 3.1.3.5), как и многие другие гидролазы клеточной поверхности, адгезивные молекулы и поверхностные антигены, связан с наружной клеточной мембраной гликозилфосфатидилинозитольным якорем [23, 24]. Экто-5'-нуклеотидаза широко распространена в разных органах и клетках [25–27], включая гепатоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки, моноциты, эозинофилы, лимфоциты. Каталитическая активность экто-5'-нуклеотидазы контролирует внеклеточный уровень АМФ и аденозина. Помимо ферментативной активности, экто-5'-нуклеотидаза вовлечена в межклеточные взаимодействия и трансмембранную сигнализацию [28].

Действуя как платформы для рецепторов и компонентов каскада переноса сигналов, рафты связаны с одной стороны клетки с гликозилфосфатидилинозитольными белками, а с цитоплазматической стороны — с членами Src семейства киназ. Это способствует увеличению концентрации или стабильности двусторонних комплексов.

В жизнеспособных клетках ФС, по-видимому, локализуется преимущественно в липидных рафтах [29], где

он не распознается фагоцитами. Индукция апоптоза может вызывать высвобождение изолированных липидов из рафтов, ведущее к их рассредоточению по всей площади мембраны для распознавания фагоцитами. Эта гипотеза согласуется с данными, которые показали, что включение экзогенного ФС в жизнеспособные клетки делает их съедобными [30].

Липидные рафты вовлечены во все стадии гемостатических реакций и тромбообразования, в том числе: (1) инициальную адгезию тромбоцитов на участке повреждения сосуда с последующей передачей внутриклеточного сигнала, (2) поступление Ca^{2+} в цитоплазму, (3) образование на кластерах ФС активированных тромбоцитов ферментных комплексов, инициирующих и поддерживающих свертывание, (4) отделение прокоагулянтных М, расширяющих зону тромбообразования [21].

М, отделяясь от различных клеток под влиянием различных агонистов, весьма гетерогенны по размеру (0,1–1 микрон), по белковому и липидному составу, чем отличаются от других липидно-белковых частиц крови, например хиломикрон, ЛПВП и ЛПНП. Экзосомальные М (именно о них идет речь в настоящем обзоре) отличаются и от экзосомальных М, которые образуются при эндоцитозе и имеют меньший размер (0,03–0,1 микрон). Антигены, находящиеся на поверхности микровезикул, характеризуют клетки, из которых они произошли. Впервые лейкоцитарные М моноцитарного происхождения, экспрессировавшие CD14, CD11a, CD18, ТФ и PSGL-1 (CD15), были идентифицированы в 1994 г. [31].

Рассмотрение участия клеток белой крови в микровезикуляции, в процессах свертывания крови и тромбообразования более подробно целесообразно начать с моноцитов, так как они, по имеющимся данным, наиболее активно участвуют в синтезе тканевого фактора свертывания крови в ответ на различные повреждающие агенты. Макрофаги играют важную роль в защитных реакциях многоклеточного организма и как первичные фагоциты врожденного иммунного ответа, и как антигенпредставляющие клетки адаптивного иммунного ответа [32]. Они способны фагоцитировать чужеродные частицы, микроорганизмы и остатки поврежденных клеток непосредственно, при этом лигандом многих рецепторов является ФС [33]. Способ узнавания макрофагами поврежденных и апоптотных клеток через экспрессируемый ими ФС распространяется и на микровезикулы. Этот, пока не изученный, механизм, вероятно, является способом удаления М из организма.

Фагоцитарная и секреторная способности клеток системы мононуклеарных фагоцитов обеспечивают им широкие полномочия профессиональных клеток защитной системы организма, при этом макрофаг объединяет свои усилия с микрофагами — нейтрофилами, лимфоцитами, тромбоцитами, эндотелием и др. Однако пер-

систирующая активация включает их в качестве клетки-эффектора в патогенез заболеваний с вовлечением типовых механизмов хронического воспаления. Именно такие механизмы обнаруживаются в патогенезе атеросклероза, возникающего из комбинации эндотелиальной дисфункции и воспаления [34, 35].

Провоспалительная активация эндотелиальных клеток (ИЛ-1 β , ФНО- α , окисленные ЛПНП, CD40/CD40L) сопровождается повышением экспрессии селектинов, адгезивных молекул сосудистой стенки VCAM-1 и межклеточных адгезивных молекул ICAM-1, способствующих привлечению моноцитов. Адгезию моноцитов к эндотелиальным клеткам могут инициировать и тромбоцитарные М. В эндотелии при этом индуцируется экспрессия ICAM-1, в ответ вовлечена протеинкиназа С [36]. Моноциты мигрируют в интиму сосуда по градиенту концентрации хематтрактанта MCP-1, взаимодействующего с моноцитарным рецептором CCR2 [37]. Способностью стимулировать эндотелиальные клетки к выработке MCP-1, провоспалительного ИЛ-6 и экспрессии ТФ свертывающей системы обладают и лейкоцитарные М; их эффект *in vitro* протекает с участием c-Jun NH₂-концевой протеинкиназы [38]. Тромбоцитарные М также повышают продукцию MCP-1 макрофагами [39]. Выработку эндотелиальными клетками ИЛ-8, являющегося хематтрактантом для моноцитов и макрофагов, индуцируют лейкоцитарные М [40].

В интиму сосуда моноциты превращаются в макрофаги и начинают экспрессировать рецепторы-мусорщики, посредством которых поглощают модифицированные липопротеины [41]. Образующиеся пенные клетки, характеризующие начальное атеросклеротическое повреждение, поддерживают адгезию и хемотаксис лейкоцитов за счет выработки провоспалительных цитокинов [35]. В атерогенез вовлекаются лимфоциты, дендритные, тучные клетки [42], гладкомышечные клетки. Т-лимфоциты проникают в интиму после связывания с VCAM-1, встречаясь здесь с антигенами (модифицированными липопротеинами), секретируют цитокины, модифицирующие активность макрофагов. Связывание CD40/CD40L в активированных Т-лимфоцитах и макрофагах приводит к экспрессии ТФ, MMPs, выработке провоспалительных цитокинов, и, таким образом, воспалительный ответ хронизируется.

В экстрактах атероматозных бляшек человека (но не в подлежащей артериальной стенке) обнаружен высокий уровень М моноцитарного и лимфоцитарного происхождения с 97% общей активности ТФ в бляшке. Это демонстрирует прямую связь М и прокоагулянтной активности экстрактов бляшки. В связи с этим обоснованно обсуждается роль апоптоза и М как критической детерминанты тромбогенности при разрыве бляшки [43].

Пара CD40/CD40L в последние годы привлекает значительное внимание исследователей, выявлена ее роль в патогенезе хронических воспалений и атероскле-

роза в том числе [44]. Первоначально идентифицированная на В- и Т-лимфоцитах, как костимуляторная система, вовлеченная в Т-зависимую активацию и дифференцировку В-лимфоцитов, она выявлена на всех клетках-участниках атеросклеротического процесса: активированных Т-лимфоцитах, эндотелиальных клетках, макрофагах, гладкомышечных клетках, тромбоцитах [45]. CD40 является 50-кДа интегральным мембранным белком семейства рецепторов ФНО, а CD40L — 39-кДа членом семейства ФНО. И рецептор, и лиганд функционируют как проатерогенные медиаторы. Наличие CD40/CD40L сигнализации выявлено иммуногистохимически и в ранних, и в прогрессирующих бляшках [46]. Инициатором экспрессии CD40 на эндотелиоцитах, макрофагах и гладких мышцах могут быть модифицированные липопротеины [47]. Сигналы с CD40 в эндотелиоцитах приводят к повышению выработки активных форм кислорода, являющихся антагонистами вазодилататора NO [48]. Связывание с CD40L эндотелиоцитов и гладких мышц индуцирует экспрессию адгезивных молекул и привлечение макрофагов и лимфоцитов [44]. Привлечение лейкоцитов в дальнейшем поддерживается CD40L-индуцируемой секрецией MCP-1, ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α клетками атеромы [45]. CD40/CD40L вносят вклад в прогрессирование процесса и дестабилизацию бляшки. Лигирование CD40 эндотелиоцитами, макрофагами и гладкими мышцами повышает экспрессию матриксных металлопротеиназ, включая интерстициальные коллагеназы MMP-1, MMP-8, MMP-13, которые, деградируя коллаген, способствуют истончению фиброзной крышки атероматозной бляшки, а также экспрессии тканевого фактора свертывающей системы [49, 50], что повышает тромбогенный потенциал бляшки. Вовлекаются и тромбоциты, так как связывание CD40/CD40L на кровяных пластинках, конститутивно экспрессирующих CD40, приводит к их активации [51].

Уровень циркулирующего растворимого sCD40L, источником которого являются активированные тромбоциты, повышен у пациентов с нестабильной стенокардией [52], а повышение уровня sCD40L является фактором риска инфаркта миокарда [53]. Вместе с тем CD40 лиганд может находиться в крови как в растворимой форме, так и связанным с М [54]. Conde I. D. и Kleiman N. S. сообщают, что CD40 лиганд в плазме представлен преимущественно растворимой формой, в то время как в сыворотке — преимущественно связан с М [55].

Участие в свертывании крови. Большинство клеток экспрессирует ТФ в зависимости от своей дифференциации. При стимуляции моноциты экспрессируют мРНК тканевого фактора, антиген ТФ и 17 000 молекул/клетку функционирующих белков ТФ [56]. Индуцировать экспрессию ТФ в изолированных моноцитах *in vitro* способны различные агонисты — бактерии или ЛПС, иммунные комплексы и комплексы комплемента, опу-

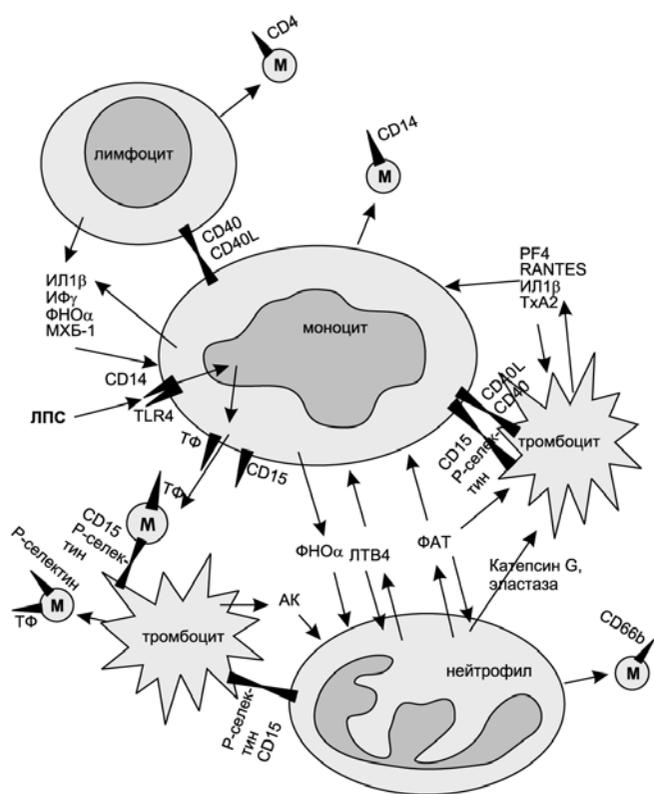


Рис. 1. Межклеточная кооперация при экспрессии моноцитарного ТФ

холевые клетки и анафилотоксины [57], лимфокины и провоспалительные цитокины. Однако в цельной крови пока только ЛПС и иммунные комплексы вызвали индукцию ТФ. Моноциты/макрофаги обеспечивают содружество иммунных и гемокоагуляционных реакций при проникновении в организм бактерий. Эндотоксин может вызывать в моноцитах двойкий прокоагулянтный ответ. Они экспрессируют ТФ и выставляют на поверхность фосфатидилсерин [58]. Большая часть ТФ и прокоагулянтной активности, зависящей от фосфатидилсерина, по результатам этих исследований была связана с М.

мРНК ТФ экспрессируется адгезированными моноцитами, но не в моноцитах цельной крови [59]. При изучении сложных смесей ингибиторов и агонистов, добавляемых в гепаринизированную кровь, стимулированную ЛПС, было показано, что 80% ингибиторного эффекта на индукцию активности ТФ моноцитами принадлежит трем веществам. Это антагонист рецептора фактора активации тромбоцитов, антагонист рецептора тромбосана А₂ и ингибитор протеазы [60, 61].

Транспорт внутриклеточного ТФ на наружную поверхность клетки в ответ на стимуляцию может играть важную роль в регуляции экспрессии ТФ на клеточной поверхности. При измерении активности ТФ в интактных, активированных моноцитах и их везикулах через 6–36 часов эндотоксиновой стимуляции [62] обнаружен

избирательный транспорт ТФ на клеточную мембрану и отделение его в виде М в питательную среду. В недавнем исследовании [63] установлено увеличение экспрессии антигена ТФ на поверхности стимулированных ЛПС моноцитов и явное истощение его в цитоплазме. Эти данные согласуются с данными [64] о мобилизации ТФ из аппарата Гольджи фибробластов.

Неапоптозирующие макрофаги могут путем экстернализации ФС эффективно участвовать в образовании протромбиназного комплекса, инициирующего тромбоногенез. Среди индукторов Ca²⁺-зависимой экстернализации ФС на М выявлен внеклеточный АТФ, действующий через P2X₇-рецептор [65]. Инкубация клеток с антагонистами P2X₇-рецепторов (KN-62 и Brilliant Blue G) ослабляет протромботическое влияние АТФ. Быстрая транслокация ФС происходит без лизиса клеток. Таким образом, провоспалительный рецептор P2X₇ может также поддерживать и распространять образование тромбина.

Сообщение между моноцитами и другими циркулирующими клетками крови или эндотелием обеспечивается как прямыми межклеточными контактами, так и секретируемыми растворимыми медиаторами, главным образом через хемокины и цитокины, действующими паракринным образом (рис. 1).

К настоящему времени получено достаточно свидетельств того, что способом межклеточной передачи сигналов является и микровезикуляция. Моноцитарные М имеют на своей поверхности одновременно активный комплекс ТФ и фосфатидилсерина, а также CD14, CD11a и CD18. Предполагается, что моноцитарный ТФ является источником ТФ в циркулирующей плазме крови, который может далее переноситься М и тромбоцитами. Этот перенос может опосредоваться взаимодействием CD15 с Р-селектином, экспонированном на активированных тромбоцитах. Интересно, что ТФ также, вероятно, действует как адгезивная молекула в этом взаимодействии [66].

Тромбоциты играют центральную роль в расшифровке ТФ и его переносе из моноцитов на М [67]. Названные авторы предложили две модели генерации: моноцитарно/тромбоцитарные гетеродуплексы (2 микровезикулы, соединенные через Р-селектин на тромбоцитарной М и его лиганд PSGL-1 на М моноцитарного происхождения) или единые моноцитарно/тромбоцитарные гибридные М. Последние образуются через слияние мембраны активированного тромбоцита с мембраной моноцита, предоставляющего ТФ. Последняя модель, по-видимому, более вероятна, так как Conde I. и др. [68] показали, что моноцитарные М сливаются с активированными тромбоцитами PSGL-1-зависимым способом. Более того, моноцитарные М избирательно обогащены ТФ и PSGL-1.

Флуоресцентно меченные М, происходящие из линии клеток, подобных моноцитам, были введены

мышам. Во время тромбообразования у дикой линии мышей М аккумуляровались в тромбах. Не было накопления М у мышей, лишенных Р-селектина. Эти результаты согласуются с моделью, в которой циркулирующие М, экспрессирующие ТФ и PSGL-1, аккумуляруются в развивающемся тромбе посредством взаимодействия Р-селектина с PSGL-1. Такая доставка и сосредоточение ТФ в тромбе ведут к достижению критической концентрации, которая инициирует свертывание крови [69].

Ряд групп сообщали о присутствии антигена ТФ в бедной тромбоцитами плазме на уровне 100–150 пг/мл. Однако [70] недавно этот вопрос был пересмотрен. Авторы не выявили ни поддающейся обнаружению активности ТФ в цельной крови, ни антигена ТФ, связанного с не стимулированными мононуклеарами в цельной крови. Количество ТФ не может превышать 20 фМ, что эквивалентно приблизительно 1 пг/мл, а в действительности, видимо, еще ниже. Поскольку эти авторы показали, что 1 пг/мл активного ТФ быстро свертывает цельную кровь, по-видимому, концентрация ТФ в крови намного ниже, чем 1 пг/мл, и многократная концентрация ТФ в тромбе представляет собой критический компонент инициирования свертывания крови. В противном случае можно допустить, что неактивная форма ТФ может подвергаться какой-то активации в ее биологически функционирующую форму.

Исследование тромбообразования на модели *in vivo* [69] показало, что, во-первых, активация тромбоцитов и образование тромбоцитарного тромба переплетены с образованием тромбина и распространением фибринового сгустка. Эти пути объединены и во времени и в пространстве. Во-вторых, хотя первоначально считалось, что скопление тромбоцитов зависит исключительно от фактора фон Виллебранда, в действительности для этого привлекаются к участию многие белки, включая фактор фон Виллебранда, фибриноген и, вероятно, фибронектин. В-третьих, в конъюгацию тромбоцит–тромбоцит, классически описанную как взаимодействие гликопротеина IIb-IIIa с фибриногеном, как стало очевидно, вовлечено несколько адгезивных молекул, кроме гликопротеина IIb-IIIa. В-четвертых, из крови ТФ доставляется в развивающийся тромб посредством процесса, зависящего от Р-селектина и PSGL-1 на М; сами же лейкоциты, несущие ТФ, не играют роли в образовании тромба или играют ее позднее. В-пятых, внутриклеточная мобилизация кальция необходима для стабильного взаимодействия тромбоцита с тромбом.

Лимфоциты непрерывно циркулируют между кровью и лимфоидными органами. В последних концентрируются антигены из всех межклеточных пространств, подвергаются процессингу, становятся доступными для антигенспецифичных лимфоцитов и вызывают иммунный ответ. При миграции лимфоциты прилипают

к эндотелиальным клеткам и далее направляются в лимфоидные органы. Этот процесс называется «хомингом». Хоминг рецептор—белок с молекулярной массой ~ 90 кДа, ковалентно связан с низкомолекулярным пептидом убиквитином, который участвует во внутриклеточной деградации белков. Роль М в этих процессах, равно как во взаимодействии с эндотелиальными клетками, в хоминге, в свете вышеприведенных данных представляется немаловажной.

В лимфоцитарных М выявлены CD4, CD3 и CD8 [71, 72]. Лимфоцитарные кластеры дифференциации CD4, CD3 и лейкоцитарный CD11a определены на М Hugel B. и др. [73].

М, полученные из человеческих Т-лимфоцитов после их обработки актиномицином D или фитогемагглютинином, вызывают нарушение сократительной функции при воздействии на фрагменты мышечной аорты и мелкие мезентериальные артерии. При этом уменьшается экспрессия NO синтазы, выработка простаглицина PGI₂ и увеличивается экспрессия кавеолина 1 [74]. Однако при этом не происходит ни нарушения кальциевой сигнализации при действии агонистов, ни уменьшения экспрессии циклооксигеназы-1. В эти реакции *in vitro* не вовлечены такие адгезивные молекулы, как лейкоцитарный функциональный антиген-1, взаимодействия FAS-FAS лигандов, потому что М, лишенные FAS или FAS-лиганда, вызывают такое же подавление NO синтазы и дополнительную экспрессию кавеолина-1. Кроме того, микровезикулы из Т-лимфоцитов могут воздействовать на сосудистый тонус прямо через мышечные клетки [75]. Такие М индуцируют сосудистую гипореактивность к вазоконстрикторным агентам в аорте мышей, которой противостоят NO синтаза и ингибиторы циклооксигеназы-2. Гипореактивность, вызванная М, связана с увеличенной продукцией NO и простаглицина I₂, обусловленными усилением экспрессии провоспалительных белков. Эти данные рассматриваются авторами в качестве рационального объяснения паракринной роли М как векторов межклеточного обмена информацией, вызывающего сосудистую дисфункцию во время заболеваний, сопровождающихся воспалением.

Морфогены действуют на клетки-мишени, изменяя программу экспрессии генов. Члены семейства Hh морфогенных белков *in vivo* играют ключевую роль в эмбриональном развитии, регулируя не только архитектуру центральной нервной системы, но и клеточную дифференциацию и пролиферацию. Одна из разновидностей этого семейства (сигнальный путь sonic) способствует ангиогенезу, гематопоезу и дифференциации тимоцитов. Martunez M. C. и соавт. [76] показали, что М, отделяющиеся с поверхности апоптотических или стимулированных Т-лимфоцитов, индуцируют дифференциацию K562 плюрипотентных эритролейкемических клеток в сторону мегакариоцитов. Это было доказано экспрессией $\alpha_{IIb}\beta_3$ интегрина, CD42b и изменением клеточного

цикла. Таким образом, М могут служить векторами в переносе биологической информации путем присоединения к своей поверхности соответствующих молекул.

Fas лиганд, особенно связанная с мембранами форма mFasL, опосредует и апоптотические и воспалительные реакции в иммунной системе. Т-лимфоциты могут продуцировать mFasL в виде М, которые сохраняют свою активность, запуская Fas-зависимый апоптоз [77]. Этот путь предоставляет альтернативу прямому механизму от клетки к клетке. Диацилглицеролкиназа, потребляя липидный вторичный мессенджер диацилглицерол, демпфирует активацию Т-лимфоцитов. Ингибирование диацилглицеролкиназы R59949 увеличивает образование летальных М, несущих mFasL. Напротив, активация диацилглицеролкиназы, связанной с транс-Гольджи сетью, подавляет образование М Т-лимфоцитами и апоптоз.

Об обнаружении большого числа М в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом упоминают Distler J. H. W. и соавт. [78]. Они изучили влияние М, полученных из моноцитов и Т-клеток под действием FasL, актиномицина D, фактора некроза опухолей α , а также интерлейкина-2, конканавалина А, анти-CD3 и липополисахарида, на синовиальные фибробласты больных ревматоидным артритом. Такие М, полученные из апоптотических и стимулированных клеток, резко усиливали синтез фибробластами мРНК матриксных металлопротеиназ (ММР-1 в 72 ± 13 раз, ММР-3 в 80 ± 10 раз, ММР-9 в 18 ± 4 раз и ММР-13 в 37 ± 2 раз).

У людей, инфицированных ВИЧ, был выявлен повышенный уровень М, несущих антиген CD4 [79]. Повышенный уровень М из гранулоцитов и лимфоцитов описан у больных преэклампсией [80].

По одновременному выявлению при проточной цитометрии CD31 и CD45 было установлено, что 5–10% М крови имеют лейкоцитарное происхождение [81]. Повышенное число гранулоцитарных М было обнаружено у больных менингококковым сепсисом, мультиорганной недостаточностью и у женщин с преэклампсией [82], что дает основание считать это признаком инфекции и воспаления. При тяжелой травме в циркуляции присутствовали М из активированных полиморфно-ядерных лейкоцитов [82].

У больных диабетом 1 и 2 типа был обнаружен повышенный уровень аннексин V-положительных М. При исследовании их клеточного происхождения кластеры дифференциации CD45+ (общие лейкоциты) были выявлены при 1 типе в количестве 38 ± 44 /мкл и 37 ± 43 /мкл при 2 типе соответственно. Контрольный уровень — 14 ± 18 /мкл. Количество CD66b+ (нейтрофилы) М составляло соответственно 22 ± 23 и 21 ± 15 /мкл при контроле 9 ± 8 /мкл; CD14+ (моноциты) изменялись незначительно [83]. Поскольку лейкоцитарные микровезикулы, взаимодействуя с эндотелиальными клетками, индуцируют в них синтез ТФ [84, 85], авторы предпола-

гают, что они, прилипая к циркулирующим клеткам и эндотелию, вызывают их активацию и васкулопатию, чем утяжеляют течение диабета.

У больных с хронической почечной недостаточностью количество CD45+ (лейкоцитарных), так же как CD144+ и CD146+ (эндотелиальных) и CD41+ (тромбоцитарных), М было больше, чем в контроле [86].

В отличие от тромбоцитарных и эндотелиальных, количество лейкоцитарных CD11a+ М и их коагуляционная активность не изменяются через 1 и 6 дней после инфаркта миокарда [87]. В то же время на 6-й день после операции чрезкожной транслуминальной коронарной ангиопластики у больных инфарктом миокарда количество и коагуляционная активность лейкоцитарных М уменьшились по сравнению с 1-м днем [88], что, по-видимому, отражает изменение провоспалительного статуса пациентов.

Увеличенное число лейкоцитарных М, особенно когда они связываются с тромбоцитами, ускоряет процесс свертывания крови на активированных тромбоцитах по пути ТФ/фактор VIIa [89, 90]. У мышей были выявлены Mac-1+ (свидетельство их лейкоцитарного происхождения) М, которые одновременно экспрессировали на своей поверхности ТФ [91]. Генетически сконструированные мыши, которые экспрессировали растворимый Р-селектин без цитоплазматического хвоста, конститутивно обнаруживали 3–4-х кратное увеличение уровня растворимого Р-селектина в плазме крови и повышенное образование Mac-1+ и ТФ+ М (до $13 \pm 3,5\%$ от общего их числа). У таких мышей было отмечено быстрое образование фибрина. Авторы предполагают, что растворимый Р-селектин не должен рассматриваться только как маркер воспаления или активации тромбоцитов, но он является прямым индуктором прокоагулянтной активности при сосудистых и тромботических заболеваниях.

Недавно появилось неожиданное сообщение [92] о том, что при сканировании методом иммуноэлектронной микроскопии предшественников клеток крови наибольшее содержание ТФ было обнаружено в предшественниках эозинофилов, меньшее — в базофилах и едва выявляемое — в нейтрофилах. В крови, полученной с предосторожностями для предупреждения активации гена ТФ, лишь зрелые эозинофилы экспрессируют значительное количество ТФ среди всех фракций гранулоцитов и моноцитов. ТФ локализуется в специфических гранулах отдыхающих эозинофилов. Фактор активации тромбоцитов и более выраженный гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) совместно с PAF вызывают транслокацию преформированного ТФ на клеточную мембрану эозинофилов. GM-CSF/PAF также увеличивают уровень транскриптов ТФ. Активированные эозинофилы проявляют прокоагулянтную активность, которая устраняется после ингибирования ТФ. Эти данные позволяют предполагать, что эозинофилы являются главным источником преформи-

рованного ТФ в крови, который имеет отношение к тромбогенезу, особенно в состоянии гиперэозинофилии.

Подробное исследование потенциального влияния М, образованных полиморфно-ядерными лейкоцитами, на эндотелиальные клетки было предпринято Mehdi Mesri и Dario C. Altieri [93]. Они обнаружили, что в нормальной циркуляции лейкоцитарные М вызывают воспалительный и прокоагулянтный ответ в эндотелии. Лейкоцитарные М стимулируют экспрессию адгезивных молекул ЭК ICAM-1, Е-селектина, VCAM-1 и цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8. Эти субклеточные частицы, образованные под действием на лейкоциты воспалительного хемотаксического пептида *N*-формил-Мет-Лей-Фен или ИЛ-8, вызывают увеличение экспрессии мРНК ТФ и появление функционирующего ТФ на поверхности ЭК. В ЭК лейкоцитарные М не вызывают активации фактора транскрипции NF-κB и тирозинфосфорилазы, зависящей от протеинкиназы ERK1, но длительно стимулируют фосфорилирование тирозина c-Jun NH₂-концевой киназой (JNK1), обычно реагирующей на ростовые факторы, цитокины и стрессовые сигналы. Как известно, JNK1 фосфорилирование также вовлечено в апоптоз клеток после их лишения ростовых факторов, обработки ФНО α или ишемии [94]. Из этого вытекает, что М имеют своей мишенью активацию JNK1 в контексте широкого стрессорного ответа ЭК, завершающегося экспрессией провоспалительных, проадгезивных и прокоагуляционных генов через активацию AP-1, вовлеченного в регуляцию транскрипции гена ТФ в эндотелии. В целом, эти данные выявили пути сигнализации от лейкоцитарных М к экспрессии генов в ЭК. Много споров вызывал вопрос об источнике ТФ в тромбоцитах, наиболее вероятно таким источником являются лейкоциты [95]. Нейтрофилы и моноциты при взаимодействии с активированными тромбоцитами ведут себя по-разному. Число нейтрофилов, несущих ТФ, не увеличивается, тогда как число моноцитов с ТФ возрастает вдвое [96]. Эти изменения могут быть предотвращены удалением тромбоцитарных М из инкубационной смеси или добавлением анти-CD62P антител.

Состав и антигенные свойства М обеспечивают им участие в механизмах, посредством которых переносятся сигналы между разными клетками. То есть М могут рассматриваться как новый путь, который используется клетками в обмене информацией в дополнение к ранее известным путям, связанным с активацией классических рецепторов.

Обнаружение микровезикул в крови

Для выделения М применяются ультрацентрифугирование [97], ультрафильтрация [1] и электрофорез [98], при помощи которых они оказываются во фракции β-липопротеинов. Для их подсчета в последнее время все чаще используют проточную цитометрию [99]. Применяя меченые антитела против клеточноспецифических

антигенов и/или маркеры активации и аннексин V, белок, который специфически связывается с отрицательно заряженными фосфолипидами в присутствии ионов кальция, фракции М или их субпопуляции могут быть количественно определены, равно как их клеточное происхождение или состояние активации. Для поправки на аутофлуоресценцию и присоединение антител к Fc-рецептору М также окрашивают (мечеными) контрольными антителами совместно с аннексином V, но без ионов кальция. Каждое событие, обнаруживаемое проточным цитометром, размер (прямое светорассеяние) и плотность (боковое светорассеяние) определяются электронной аппаратурой, так же как и флуоресценция на разных каналах. Флуоресценция отражает количество связанных антител, и, таким образом, измеряется количество антигена, экспонированного на поверхности мембраны.

Идентификация М осуществляется также путем электронной микроскопии, при которой они выглядят как пузырьки диаметром от 0,1 до 1,0 мкм.

Для иммуноферментного метода часто используют плашки, покрытые аннексином V. При добавлении проб плазмы присутствующие М связываются с аннексином V. После отмывания клеточноспецифические антитела могут быть добавлены для выявления той или иной разновидности М. После такого же отмывания гемоккоагуляционные свойства связанных М могут быть определены по их протромбиназной активности.

Мы на протяжении многих лет для определения количества М использовали определение маркерного фермента экто-5'-нуклеотидазы. Как известно, фермент может служить маркером, если он прочно связан с определенными субклеточными структурами. Для оценки прочности связи экто-5'-нуклеотидазы с мембранами интимы аорты человека были проведены механическая дезинтеграция ткани, ультрацентрифугирование в течение 30 мин при 100 000 g и фильтрация через мембранный фильтр VUFS Synrog (Praga) со средним диаметром пор 0,25 мкм. Обнаружено, что экто-5'-нуклеотидазная и коагуляционная активности задерживаются фильтром. Ультрафильтрат был лишен обеих активностей, осадок же на фильтре, состоящий из фрагментов мембран эндотелия, не осевших после 30-минутного центрифугирования при 100 000 g, обладал наибольшей удельной активностью экто-5'-нуклеотидазы и удельной прокоагулянтной активностью. В интима аорты кроликов обнаружена высокая активность экто-5'-нуклеотидазы ($49,9 \pm 6,6$ ед. на 1 мг белка), которая в цельном гомогенате была больше приблизительно в 10 раз, а в мембранах микросомальных фракций — в 20 раз, чем в тромбоцитах, и лишь 7% ее проходило через ультрафильтр с диаметром пор 0,25 мкм.

Результаты исследований показывают, что после унификации методы исследования М в крови должны найти широкое применение для суждения о здоровье человека.

Литература

1. Зубаиров Д. М., Андрушко И. А., Сторожев А. Л. Кардиология, 1974, 11, 75–80.
2. Зубаиров Д. М., Андрушко И. А., Латфуллин И. А. и др. Кардиология, 1981, 21, 8, 47–49.
3. Зубаиров Д. М., Щербатенко-Лушникова Л. А., Андрушко И. А., Габитов С. З., Литвинов Р. И., Кальбина А. В., Воронина И. Е. Тер. архив, 1981, 53, 8, 29–30.
4. Андрушко И. А., Юсупова А. Н. // Казан. мед. журн. — 1987. № 3. — С. 202–205.
5. Андрушко И. А., Евсеев Е. М. // Казан. мед. журн. — 1983. № 1. — С. 35–39.
6. Зубаиров Д. М., Андрушко И. А., Зубаирова Л. Д. // Гематология и трансфузиология, 1999, 44, 5, 24–30.
7. Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. // Рос. физиол. ж. 2000, 86, 2, 148–163.
8. Rothman J. E., Lenard J. // Science, 1977, 195, 4280, 743–753.
9. Seigneuret M., Devaux P. F. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1984. 81, 12, 3751–3755.
10. Pomorski T., Hrafnisdottir S., Devaux P. F., van Meer G. Cell Dev. Biol. 2001, 12, 2, 139–148.
11. Krishnakumar Balasubramanian, Schroit A. J. Annu. Rev. Physiol. 2003. 65. 701–734.
12. Sims P. J., Wiedmer T. Thromb. Haemost. 2001, 86, 1, 266–275.
13. Williamson P., Schlegel R. A. Biochim. Biophys. Acta 2002, 1585, 433–453.
14. Fadok V. A., de Cathelineau A., Daleke D. L., Henson P. M., Bratton D. L. // J. Biol. Chem. 2001, 276, 2, 1071–1077.
15. Михуткина С. В., Салмина А. Б., Сычев А. В. и др. Булл. экпер. биол. и мед. 2004, 137, 6, 628–632.
16. Sims P. J., Wiedmer T., Esmon C. T., Weiss H. J., Shattil S. J. // J. Biol. Chem. 1989, 264, 29, 17049–17057.
17. Zwaal R. F. A., Comfurius P., Bevers E. M. Biochim. Biophys. Acta. 1992, 1180, 1–8;
18. Dachary-Prigent J., Pasquet J. M., Freyssinet J. M., Nurden A. T. Biochemistry, 1995, 34, 11625–11634.
19. Pike L. J. Biochem. J. 2004, 378, 281–292.
20. Brown D. A., London E. // J. Biol. Chem. 2000, 275, 23, 17221–17224.
21. Simons K., Toomre D. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2000, 1, 31–39.
22. Misumi Y., Ogata S., Ohkubo K., Hirose S., Ikehara Y. // Eur. J. Biochem. 1990, 191, 563–569.
23. Bianchi V., Spychala J. // J. Biol. Chem. 2003, 278, 47, 46195–46198.
24. Зубаиров Д. М., Кузнецов В. И. Вопр. Мед. Химии. 1982, 2, 115–118.
25. Кузнецов В. И. // Казан. мед. журн. — 1983, 64, № 1. — С. 32–35.
26. Зубаирова Л. Д.; Рахматуллина А. И., Зубаирова Л. Д. // Казан. мед. журн. — 1984, № 1. — С. 61.
27. Kawashima Y., Nagasawa T., Ninomiya H. // Blood, 2000, 96, 6, 2157–2162.
28. Saslowsky D. E., Larence J., Ren X., Brown D. A., Henderson R. M., Edwardson J. M. // J. Biol. Chem. 2002, 277, 26966–26970.
29. Pike L. J., Han X., Chung K. N., Gross R. W. Biochemistry, 2002, 41, 2075–2088.
30. Fadok V. A., de Cathelineau A., Daleke D. L., Henson P. M., Bratton D. L. // J. Biol. Chem. 2001, 276, 2, 1071–1077.
31. Satta N., Toti F., Feugeas O., Bohbot A., Dachary-Prigent J., Eschwege V., Hedman H., Freyssinet J. M. // J. Immunol. 1994, 153, 7, 3245–3255.
32. Меджитов П., Джаневей Ч. // Казанск. мед. ж. 2004, 85, 3, 161–167.
33. Krishnakumar Balasubramanian, Schroit A. // J. Annu. Rev. Physiol. 2003. 65. 701–734.
34. Ross R. N. Engl. J. Med. 1999, 340, 2, 115–126.
35. Libby P. Nature. 2002, 420, 6917, 868–874.
36. Barry O. P., Pratico D., Rashmin C. S., Fitzgerald G. A. // J. Clin. Invest. 1998. 102. 136–144.
37. Boring L., Gosling J., Cleary M. et al. Nature. 1998, 394, 894–897.
38. Mesri V., Altieri D. C. // J. Biol. Chem. 1999, 274, 33, 23111–23118.
39. Miyamoto S., Kowalska M. A., Marcinkiewicz C., Marcinkiewicz M. M., Mosser D., Edmunds L. H., Niewiarowski S. // Thromb. Haemost. 1998, 80, 6, 982–988.
40. Mesri M., Altieri D. C. // J. Immunol. 1998, 161, 4382–4387.
41. Kunjathoor V. V., Febrão M., Podrez E. A., Podrez E. A., Moore K. J., Andersson L., Koehn S., Rhee J. S., Silverstein R., Hoff H. F., Freeman M. W. // J. Biol. Chem. 2002, 277, 51, 49982–49988.
42. Hansson G. K., Libby P., Schonbeck U. et al. // Circ. Res. 2002, 91, 281–291.
43. Mallat Z., Hugel B., Ohan J., Leseche G., Freyssinet J. M., Tedgui A. Circulation. 1999, 99, 3, 348–353.
44. Lutgens E., Daemen M. // Trends Cardiovasc. Med. 2002, 12, 27–32.
45. Schonbeck U., Libby P. // Circ. Res. 2001, 89, 1092–1103.
46. Brummer D., Riggers U., Holzmeister J. et al. // Am. J. Cardiol. 2001, 87, 21–27.
47. Schonbeck U., Gerdes N., Varo N. et al. // Circulation. 2002, 106, 2888–2893.
48. Urbich C., Dernbach E., Aicher A. et al. // Circulation. 2002, 106, 981–986.
49. Bavendiek U., Libby P., Kilbride M. et al. // J. Biol. Chem. 2002, 277, 25032–25039;
50. Schonbeck U., Mach F., Sukhova G. K. et al. // Am. J. Pathol. 2000, 156, 7–14.
51. Inwald D. P., McDowall A., Peters M. J. et al. // Circ. Res. 2003, 92, 1041–1048.
52. Aukrust P., Ueland T. et al. // Circulation. 1999, 100, 614–620.
53. Heeschen C., Dimmeler S., Hamm C. W. et al. // N. Engl. J. Med. 2003, 348, 1104–1111.
54. Baj-Krzyworzeka M., Pratico D. et al. // Exp. Hematol., 2002. 30. 450–459.
55. Conde I. D., Kleiman N. S. N. // Engl. J. Med. 2003, 19, 2575–2577.
56. Gregory S. A., Morrissey J. H., Edgington T. S. // Mol. Cell. Biol. 1989, 9, 2752–2755.

57. Eilertsen K. -E., Osterud B. // *Biochem. Soc. Transact.* 2005, 33, part 2, 418–422.
58. Satta N., Toti F., Feugeas O., Bohbot A., Dachary-Prigent J., Eschwege V., Hedman H., Freyssinet J. M. // *J. Immunol.* 1994, 153, 7 3245–3255.
59. Iochmann S., Reverdiau Moalic P., Beaujean S. // *Thromb. Res.* 1999, 94: 165–173.
60. Osterud B. J. // *Leukoc. Biol.* 1992, 51, 5, 462–465;
61. Eilertsen K. E., Osterud B. // *Haemostasis*, 2000, 30, 79.
62. Bona R., Lee E., Rickles F. // *Thromb. Res.* 1987, 48, 487–500.
63. Egorina E. M., Sovershaev M. A., Bjorkoy G. et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005, 25, 1493–1498.
64. Mandal S. K., Pendurthi U. R., Rao V. M. // *Blood.* 2006, DOI 10.1182/blood-2005-11-4674.
65. Moore S. F., Mackenzie A. B. // *Cell Signal.* 2006, Dec 15.
66. Rauch U., Bonderman D., Bohrmann B., Badimon J. J., Himmer J., Riederer M. A., Nemerson Y. // *Blood*, 2000, 96, 1, 170–175.
67. Eilertsen K. -E., Osterud B. // *Biochem. Soc. Transact.* 2005, 33, part 2, 418–422.
68. Conde I., Shrimpton C. N., Thiagarajan P., Lopez J. A. // *J. Thromb. Haemost.* 2003, 1, Abstract no. OC146.
69. Furie B., Furie B. C. Thrombus formation in vivo. *J. Clin. Investig.* 2005, 115, 12, 3355–3362.
70. Butenas S., Bouchard B. A., Brummel-Ziedins K. E., Parhami-Seren, B., Mann K. G. *Blood*, 2005, 105, 2764–2770.
71. Mallat Z., Benamer H., Hugel B., Benessiano J., Steg P. G., Freyssinet J. M., Tedgui A. *Circulation.* 2000, 101, 841–843;
72. Martin S., Tesse A., Hugel B., Martýnez M. C., Morel O., Freyssinet J. M., Andriantsitohaina R. *Circulation.* 2004, 109, 1653–1659.
73. Hugel B., Zobairi F., Freyssinet J.-M. *J. Thromb. Haemost.* 2004, 2, 1846–1847.
74. Martin S., Tesse A., Hugel B., Martýnez M. C., Morel O., Freyssinet J. -M., Andriantsitohaina R. *Circulation.* 2004, 109, 1653–1659.
75. Martýnez M. C., Tesse A., Zobairi F., Andriantsitohaina R. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2005, 288, 1004–1009.
76. Martýnez M. C., Larbret F., Zobairi F., Coulombe J., Debili N., Vainchenker W., Ruat M., Freyssinet J. M. *Blood*, 2006, 108, 9, 3012–3020.
77. Alonso R., Rodriguez M. C., Pindado J., Merino E., Mérida I., Izquierdo M. J. *Biol. Chem. Papers in Press.* Published on May 3, 2005.
78. Distler J. H. W., Jüngerling A., Huber L. C., Seemayer A., Gay R. E., Michel B. A., Kalden J. R., Gay S., Pisetsky D. S., Distler O. *Arthritis Research & Therapy.* 2005, Vol. 7, Suppl. 1, Abstracts of the 25th European Workshop for Rheumatology Research, P. 140, S50.
79. Aupeix K., Hugel B., Martin T., Bischoff P., Lill H., Pasquali J. L., Freyssinet J. M. *J. Clin. Invest.* 1997, 99, 1546–1554.
80. Van Wijk M. J., Nieuwland R., Boer K., Van der Post J. A. M., VanBavel E., Sturk A. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2002, 187, 450–456.
81. Jimenez J. J., Jy W., Horstman L. L., Ahn Y. S. *J. Thromb. Haemost.* 2004, 2, 1850–1851.
82. Fujimi S., Ogura H., Tanaka H., Koh T., Hosotsubo H., Nakamori Y., Kuwagata Y., Shimazu T., Sugimoto H. *J. Trauma.* 2003, 54, 114–119.
83. Sabatier F., Darmon P., Hugel B., Combes V., Sanmarco M., Velut J. G., Arnoux D., Charpiot P., Freyssinet J.-M., Oliver C., Sampol J., Dignat-George F. *Diabetes.* 2002, 51, 9, 2840–2845.
84. Berliner S., Rogowski O., Rostein R., Fusman R., Shapira I., Bornstein N. M., Prochorov V., Roth A., Keren G., Eldor A., Zeltser D. *Cardiology*, 2000, 94, 19–25.
85. Chello M., Mastroberto P., Cirillo F., Bevacqua E., Carrano A., Peticone F., Marchese A. R. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 1998, 14, 373–379.
86. Faure V., Dou L., Sabatier F., Cerini C., Sampol J., Berland Y., Brunet P., Dignat-George F. *J. Thromb. Haemost.* 2006, 4, 3, 566.
87. Morel O., Hugel B., Jesel L., Lanza F., Douchet M.-P., Zupan M., Chauvin M., Cazenave J. -P., Freyssinet J. M., Toti F. *Thromb. Haemost.* 2004, 91, 345–353.
88. Morel O., Hugel B., Jesel L., Mallat Z., Lanza F., Douchet M.-P., Zupan M., Chauvin M., Cazenave J.-P., Tedgui A., Freyssinet J.-M., Toti F. *J. Thromb. Haemost.* 2004, 2, 7, 1118.
89. Swords N. A., Tracy P. B., Mann K. G. *Arterioscler. Thromb.* 1993, 13, 1613–1622; Kirchhofer D., Tschopp T. B., Steiner B., Baumgartner H. R. *Blood*, 1995, 86, 3815–3822;
90. Giesen P. L., Rauch U., Bohrmann B., Kling D., Roque M., Fallon J. T., Badimon J. J., Himmer J., Riederer M. A., Nemerson Y. *PNAS.* 1999, 96, 2311–2315.
91. Andre P., Hartwell D., Hrachovina I., Saffaripour S., Wagner D. D. *PNAS.* 2000, 97, 25, 13835–13840.
92. Moosbauer C., Morgenstern E., Cuvelier S. L., Manukyan D., Bidzhekov K., Albrecht S., Lohse P., Patel K. D., Engemann B. *Blood.* 2007, 109, 3, 995–1002.
93. Mesri M., Altieri D. C. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 33, 23111–23118.
94. Xia Z. G., Dickens M., Raingeaud J., Davis R. J., Greenberg M. E. *Science*, 1995, 270, 1326–1331.
95. Rauch U., Bonderman D., Bohrmann B., Badimon J. J., Himmer J., Riederer M. A., Nemerson Y. *Blood.* 2000, 96, 170–175.
96. Losche W., Scholz T., Temmler U., Oberle V., Claus R. A. *Platelets.* 2004, 15, 2, 109–115.
97. Бышевский А. Ш., Зубаиров Д. М., Терсенов О. А. Тромбопластин. — Новосибирск, 1993. — 1–178.
98. Сторожев А. Л., Зубаиров Д. М. / Бюл. экспер. биол. — 1976. № 5. — С. 545–547.
99. Dignat-George F., Sabatier F., Camoin-Jau L., Sampol J. J. *J. Thromb. Haemost.* 2004, 2, 1844–1845.

СОСТОЯНИЕ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ, СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

А. Ж. КАРАБАЕВА, А. М. ЕСАЯН, И. Г. КАЮКОВ

Кафедра нефрологии и диализа факультета последипломного обучения
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Росздрава, Россия

Резюме. Цель исследования: оценить состояние фибринолитической системы, гемостаза и функции эндотелия у больных с хронической болезнью почек (ХБП) III–V стадии.

Материал: 126 пациентов с ХБП III–V стадии.

Методы исследования: определение концентрации альдостерона крови, оценка фибринолитической системы и функционального состояния эндотелия с помощью биохимических маркеров – ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI-1), эндотелина-1, оценка морфофункциональной активации и агрегации тромбоцитов, концентрации фибриногена по Клауссу, активности антитромбина-III (АТ-III), уровня D-димера методом латексной агглютинации.

Результаты: у больных с ХБП III–IV ст. значения КАП находились в пределах нормальных величин ($154,6 \pm 11,8$ pg/ml), в то время как у пациентов на ГД отмечено значительное повышение КАП (до $633,24 \pm 82,0$ pg/ml). Достоверных различий КАП в зависимости от пола и диагноза не получено. Данные корреляционного анализа выявили зависимость КАП с креатинином после диализа ($r = 0,25, p < 0,03$), общим белком ($r = 0,32, p < 0,005$) и СОЭ ($r = 0,3, p < 0,02$) и отрицательную взаимосвязь с возрастом ($r = -0,16, p < 0,004$).

100% пациентов с ХБП, вне зависимости от степени снижения функции почек, имеют резко повышенный уровень РАI-1 (до $5,19 \pm 0,16$ U/ml у больных с ХБП III–IV ст. и до $5,38 \pm 0,14$ U/ml у больных на ГД). Уровень эндотелина-1 также повышен (до $0,34 \pm 0,03$ fmol/ml у больных с ХБП III–IV ст. и до $0,59 \pm 0,03$ fmol/ml у больных на ГД). Выявлена отрицательная корреляционная зависимость между концентрацией РАI-1 и уровнем общего белка ($r = -0,34, p < 0,01$). Исследование системы гемостаза у больных с ХБП в сравнении с группой здоровых лиц выявило активацию тромбоцитарного звена: повышение суммы активных форм тромбоцитов и увеличение числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, за счет образования внутрисосудистых агрегатов малого размера ($p < 0,05$), повышение концентрации фибриногена ($p < 0,05$), значения АТ-III находились на нижней границе референтных величин, 30% больных имели повышенный уровень D-димера.

Выводы: у больных с III–IV стадией ХБП выявлены нормальные значения КАП и АТ-III, уровень РАI-1 и эндотелина-1 повышен, имеется активация тромбоцитарного звена гемостаза. У пациентов с V стадией ХБП имеется повышение КАП, РАI-1, эндотелина-1, активация тромбоцитарного звена гемостаза и повышение уровня D-димера.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, хронический гемодиализ, альдостерон, РАI-1, эндотелин-1, фибринолитическая система, система гемостаза, эндотелиальная дисфункция.

FIBRINOLYTIC SYSTEM, SYSTEM OF A HEMOSTASIS AND ENDOTHELIAL FUNCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASES

A. ZH. KARABAEVA, A. M. ESAIAN, I. G. KAUKOV

Chair of nephrology and dialysis of postgraduate education faculty of State Educational Institution
of Higher Professional Education "Saint-Petersburg State I. P. Pavlov Medical University,
Federal Agency for Health Care and Social Development", Russia

Summary. The aim of research: to estimate a condition of fibrinolytic system, a hemostasis and endothelial function in patients with chronic kidney diseases (CKD) III–V stages.

Material: 126 patients with CKD III–V stages.

Methods of research: evaluation of aldosterone blood levels, fibrinolytic system activity, and functional state of endothelium (the last one – by the use of biochemical markers – inhibitor the plasminogen activator 1 type (РАI-1), endothelin-1). Morfofunctional activation and aggregation of platelets and concentration of fibrinogen (Clauss method), antitrombin-III (АТ-III) activity, D-dimer levels (latex agglutination method) were also evaluated.

Results: in patients with CKD III–IV stages values aldosterone blood were within the limits of normal levels (154.6 ± 11.8 pg/ml) while in patients on haemodialysis (HD) substantial increase aldosterone blood levels up to 633.24 ± 82.0 pg/ml was noted. No significant differences of aldosterone blood levels depending on sex and diagnosis were found. Correlation analysis revealed links between aldosterone blood level and creatinine level after dialysis ($r = 0.25$, $p < 0.03$), total serum protein ($r = 0.32$, $p < 0.005$) and ESR ($r = 0.3$, $p < 0.02$); negative correlation with age was also found ($r = -0.16$, $p < 0.004$). 100% of patients with CKD, independently on decrease of kidneys, have markedly increased PAI-1 level (up to 5.19 ± 0.16 U/ml at patients with CKD III–IV and up to 5.38 ± 0.14 U/ml in patients on HD). The level of endothelin-1 also is raised (up to 0.34 ± 0.03 fmol/ml in patients with CKD III–IV st. and up to 0.59 ± 0.03 fmol/ml in patients on HD). Negative correlations between PAI-1 level and total serum protein ($r = -0.34$, $p < 0.01$) was also found. Hemostasis changes in patients with CKD in comparison with group of healthy persons revealed activation of a platelet-related component: increase of the active forms of platelets and increase of platelet count in aggregates (formation of intravascular small aggregates) ($p < 0.05$), increase of fibrinogen concentration ($p < 0.05$). AT-III levels were at the lower border of referent level, 30% of patients had raised D-dimer levels.

Conclusions: in patients with III–IV stages CKD normal levels of aldosterone and AT-III are revealed, PAI-1 and endothelin-1 are increased, activation of a platelet part of a hemostasis is also found. Patients with V stage CKD have increased aldosterone blood levels, levels of PAI-1 and endothelin-1, activation of a platelet-related part of a hemostasis and increase of D-dimer levels.

Key words: chronic kidney diseases, a chronic haemodialysis, aldosterone, PAI-1, endothelin-1, fibrinolytic system, system of hemostasis, endothelial dysfunction.

Введение

Хроническая болезнь почек (ХБП) играет все более возрастающую роль в общей структуре заболеваемости и смертности населения. С одной стороны, это обусловлено фактическим учащением хронических заболеваний почек, с другой — увеличением продолжительности жизни больных с терминальной стадией почечной недостаточности в связи со значительным прогрессом заместительной почечной терапии [1, 19]. Рост распространенности поражений почек, в свою очередь, связан с их вовлечением в патологический процесс при широком спектре заболеваний внутренних органов и систем, ведущей из которых является патология сердечно-сосудистой системы. В прогрессировании хронической болезни почек и развитии кардиоваскулярных повреждений существенное значение придается ренин-ангиотензин-альдостероновой системе (РААС). При этом основными факторами, определяющими повреждения почек и сердечно-сосудистой системы у пациентов с ХБП, считаются ангиотензин II и альдостерон. Эффекты ангиотензина II в этих процессах достаточно хорошо изучены. Однако значению альдостерона как независимому фактору развития и прогрессирования кардиоваскулярных и почечных повреждений внимание стали уделять сравнительно недавно [9, 11, 35]. В настоящее время альдостерон рассматривается (как в совокупности с ангиотензином II, так и самостоятельно) в качестве основного фактора, определяющего повреждение почек и сердечно-сосудистой системы у пациентов с ХБП [9, 11, 35, 36]. Свое действие альдостерон оказывает через стимуляцию специфических минералкортикоидных рецепторов (МР). Исследованиями последнего десятилетия идентифици-

рованы, помимо классических эпителиальных, и неэпителиальные МР, рецепторы, локализованные в миокарде, сосудах, центральной нервной системе [12]. Именно с воздействием на эти неэпителиальные МР связано воздействие альдостерона на патологию сердечно-сосудистой системы.

Пациенты и методы

Нами обследовано 126 пациентов (табл. 1) с III–V стадией хронической болезни почек.

Как следует из табл. 1, большинство пациентов страдает хроническим гломерулонефритом (ХГН). У 41 пациента отмечается снижение функции почек, соответствующее III–IV ст. ХБП, у 85 пациентов — V ст. ХБП, эти пациенты находятся на программном гемодиализе (ГД). Средняя длительность терапии гемодиализом у этих пациентов составила $7,8 \pm 0,5$ лет. У обследованных пациентов определялись концентрация альдостерона плазмы (КАП, иммуноферментный анализ), уровень PAI-1 (метод хромогенных субстратов), t-РА и эндотелина-1 (иммуноферментный анализ), оценка морфофункциональной активации и агрегации тромбоцитов при микроскопии фиксированных глутаральдегидом тромбоцитов, концентрации фибриногена по Клауссу, активности AT-III (метод хромогенных субстратов), уровня D-димера (метод латексной агглютинации) до и после 6-месячного курса терапии спиронолактоном в дозе 25 мг/сут на фоне терапии ингибиторами АПФ, диуретиками, β -блокаторами. Забор венозной крови для измерения указанных показателей производился утром до сеанса гемодиализа. Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета прикладных про-

Таблица 1

Контингент обследованных пациентов (n = 126)

Диагноз	Число больных	Возраст, лет	М/Ж
Хронический гломерулонефрит	76	50,1 ± 1,4	38/38
Хронический пиелонефрит	17	46,8 ± 3,8	10/7
Сахарный диабет	13	56,8 ± 4,2	6/7
Поликистоз почек	12	50,6 ± 2,6	4/8
Артериальная гипертензия	8	52,8 ± 4,2	5/3

Таблица 2

Показатели КАП, РАI-1, эндотелина-1 и активности тромбоцитов у пациентов с ХБП III–V ст., М ± m

Показатель	Норма	ХБП III–IV ст.	ХБП V ст. (больные на ГД)	Достоверность различий (p)
КАП, pg/ml	160	154,6 ± 11,8	633,24 ± 82,0	p = 0,004
РАI-1, U/ml	3,5	5,19 ± 0,16	5,38 ± 0,14	p > 0,05
Эндотелин-1, fmol/ml	0,26 ± 0,05	0,34 ± 0,03	0,59 ± 0,03	p < 0,001
Сумма активных форм тромбоцитов	7,9–17,7	20,9 ± 6,32	22,1 ± 3,99	p > 0,05
Число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты	6,1–7,4	8,8 ± 4,62	9,6 ± 2,99	p > 0,05
Концентрация фибриногена, г/л	1,8–3,5	4,2 ± 1,06	4,3 ± 0,59	p > 0,05
АТ-III, %	75–125	82,5 ± 12,66	87,1 ± 7,55	p > 0,01

грамм STATISTICA 6.0. Различия признавали достоверными при p < 0,05.

Результаты

Сравнительная оценка указанных параметров представлена в таблице 2. Как видно из данных таблицы, у больных с ХБП III–IV ст. значения КАП находились в пределах нормальных величин (154,6 ± 11,8 pg/ml), в то время как у пациентов на ГД отмечено значительное повышение КАП (до 633,24 ± 82,0 pg/ml). Достоверных различий КАП в зависимости от пола и диагноза не получено. Данные корреляционного анализа выявили зависимость КАП с креатинином после диализа (r = 0,25, p < 0,03), общим белком (r = 0,32, p < 0,005) и СОЭ (r =

0,3, p < 0,02) и отрицательную взаимосвязь с возрастом (r = -0,16, p < 0,004).

На следующем этапе производилась оценка функционального состояния эндотелия с помощью определения биохимических маркеров (уровня РАI-1 и эндотелина-1). Оказалось, что 100% пациентов с ХБП, вне зависимости от степени снижения функции почек, имеют резко повышенный уровень РАI-1 (до 5,19 ± 0,16 U/ml у больных с ХБП III–IV ст. и до 5,38 ± 0,14 U/ml у больных на ГД). Уровень эндотелина-1 также был повышен (до 0,34 ± 0,03 fmol/ml у больных с ХБП III–IV ст. и до 0,59 ± 0,03 fmol/ml у больных на ГД), что свидетельствует о выраженной активации эндотелия. Не получено достоверных различий уровня РАI-1 и эндо-

телина-1 в зависимости от пола и диагноза. Данные корреляционного анализа выявили отрицательную корреляционную зависимость между концентрацией PAI-1 и уровнем общего белка ($r = -0,34$, $p < 0,01$).

При исследовании системы гемостаза у больных с ХБП в сравнении с группой здоровых лиц выявлена активация тромбоцитарного звена: повышение суммы активных форм тромбоцитов и увеличение числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, за счет образования внутрисосудистых агрегатов малого размера ($p < 0,05$), повышение концентрации фибриногена ($p < 0,05$), значения АТ-III находились на нижней границе референтных величин, 30% больных имели повышенный уровень D-димера.

Обсуждение

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что у пациентов с III–IV ст. ХБП значения КАП и АТ-III находятся в пределах нормальных величин, а показатели PAI-1, эндотелина-1 превышают норму. Кроме того, выявлена активация тромбоцитарного звена гемостаза и повышение концентрации фибриногена. У пациентов с V стадией ХБП показатели КАП, PAI-1, эндотелина-1 значительно выше нормальных величин. Также выявлена активация тромбоцитарного звена гемостаза, повышение концентрации фибриногена и уровня продукта деградации фибрина D-димера. Это согласуется с представлениями о существенной роли РААС и дисфункции эндотелия в прогрессировании поврежденной почек.

Анализируя участие альдостерона в процессах фиброобразования тканей, можно выделить несколько механизмов.

Первый из них, согласно данным Rocha и соавт., заключается в том, что альдостерон вызывает воспаление и фибриноидный некроз мелких артерий и артериол, а последующий фиброз тканей представляет собой репаративный процесс [22]. Кроме того, данный минералкортикоидный гормон участвует в процессе фиброгенеза за счет прямого воздействия на соответствующие рецепторы, локализованные в цитозоле сосудистых фибробластов. При активации эти рецепторы теряют соответствующий белок (heat shock protein) и их мономерные формы проникают в клеточное ядро, где связываются с определенным участком ДНК, ответственным за экспрессию мРНК коллагена I типа [9, 34].

Кроме того, выдвинута гипотеза, что альдостерон может также вызвать повреждение миокарда непосредственно, стимулируя апоптоз кардиомиоцитов [22].

Другим механизмом, с помощью которого альдостерон может способствовать усилению фиброгенеза в органах-мишенях, включая миокард и почки, может быть его воздействие на систему фибринолиза через влияние

на ингибиторы и активаторы плазминогена. Внутрисосудистый баланс в фибринолитическом звене системы гемостаза в значительной мере определяется конкурирующим воздействием активаторов плазминогена и его ингибиторов, наиболее важными из которых являются PAI-1 и t-PA. PAI-1 — главный ингибитор активатора плазминогена тканевого типа *in vivo* [25]. Увеличенная экспрессия PAI-1 демонстрировалась при атеросклеротических повреждениях [3, 6, 27] и гломерулосклерозе [8, 17, 29]. Повышенные уровни PAI-1 отмечены у молодых пациентов после перенесенного инфаркта миокарда (ИМ) и являются фактором риска повторного ИМ [13, 14]. И ангиотензин II, и альдостерон увеличивают экспрессию PAI-1 в астроцитах [23], эндотелиальных клетках [32], гладкомышечных клетках сосудов [31], клетках проксимального тубулярного эпителия [15] и мезангиальных клетках [16].

Активация РААС ограничением диетического натрия [2] или применением диуретиков [26] увеличивала экспрессию циркулирующего PAI-1, тогда как прерывание РААС ингибиторами АПФ уменьшает концентрации PAI-1 у нормотензивных субъектов с ограничением диетического натрия [2], гипертензивных субъектов [18] и пациентов после ИМ [33]. При ограничении диетического натрия обнаружена корреляция плазменной концентраций PAI-1 с концентрациями альдостерона даже в присутствии АПФ [2]. Таким образом, было предположено, что альдостерон регулирует экспрессию PAI-1 [5].

Исследованиями Brown N. J. и соавт. [4] установлен эффект альдостерона по усилению экспрессии PAI-1 в культуре эндотелиальных клеток. В присутствии ангиотензина II альдостерон увеличивает эндотелиальную экспрессию PAI-1, и этот эффект носит дозозависимый характер. Кроме того, коинкубация с избытком антагонистов МР спиронолактоном уменьшает эффект альдостерона по экспрессии PAI-1. Эти данные предполагают, что альдостерон увеличивает экспрессию PAI-1 в эндотелиальных клетках в присутствии ангиотензина II через классический механизм воздействия на МР.

Более того, Ullian M. E. и соавт. установили, что альдостерон может увеличить эффект ангиотензина II и через другие потенциальные механизмы, такие как сверхрегуляция ангиотензиновых рецепторов [30].

Ингибитор активатора плазминогена 1 типа, ингибируя продукцию плазмина из плазминогена, склоняет чашу весов в пользу внеклеточного матричного накопления и, таким образом, способствует фиброзу [5]. Все это содействует подавлению системы фибринолиза и развитию повреждений микроциркуляторного русла, что в конечном итоге способствует фиброзированию ткани [4, 7, 10]. Данный эффект опосредуется развитием воспалительной реакции с формированием микроангиопатии и околососудистого и интерстициального

фиброза. Повышенная продукция PAI-1 и трансформирующего фактора роста β (TGF- β) вызывает фибропролиферативную деструкцию клубочков и интерстиция [4, 5].

РААС на уровне эндотелия взаимодействует с фибринолитической системой. Поскольку и t-РА, и PAI-1 синтезируются прежде всего эндотелиальными клетками, именно эндотелий играет важную роль в поддержании сосудистого фибринолитического баланса.

Повышенный уровень PAI-1 и эндотелина-1 является отражением дисфункции эндотелия, клиническое значение которой — формирование микротромбов и микроинфарктов ткани, впоследствии восстанавливающейся посредством фиброза. Обусловленное эндотелиальной дисфункцией повреждение тканей, как полагают, играет определенную роль в профиброзном эффекте альдостерона на миокард [28].

Гиперпродукция альдостерона и ангиотензина II обуславливает нарушение участия эндотелия в регуляции фибринолиза, что является важным звеном в патогенезе атеросклероза и формировании сердечно-сосудистых осложнений. В фибринолизе альдостерон, ангиотензин II и АПФ можно рассматривать как протромботические агенты: альдостерон и ангиотензин II опосредуют гиперэкспрессию PAI-1, а АПФ способствует формированию ангиотензина II и деградации брадикинина. Увеличенные уровни PAI-1 связаны с увеличенным риском тромботических событий у людей. Так, повышенные уровни PAI-1 отмечены у молодых пациентов после перенесенного инфаркта миокарда и являются фактором риска повторного инфаркта миокарда [13, 14].

Маркером дисбаланса в системе фибринолиза и в системе гемостаза является также уровень продукта деградации фибрина D-димера. Согласно данным многочисленных исследований D-димер является незави-

мым предиктором ИБС и ассоциируется с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений [20, 21, 24]. Вероятно, это обусловлено тем, что продукты деградации фибрина стимулируют синтез моноцитов и выброс интерлейкина-6, опосредуя, таким образом, воспалительные реакции. С другой стороны, D-димер обуславливает связь между воспалением и нарушениями в системе фибринолиза, что способствует прогрессированию атеросклероза и, в конечном итоге, прогрессированию ИБС.

Изучение активности PAI-1, С-реактивного белка (СРБ) и уровня триглицеридов сыворотки крови у пациентов на гемодиализе показало, что увеличенные уровни активности PAI-1 были связаны в значительной степени с главными классическими факторами риска ИБС и в меньшей степени — с триглицеридами сыворотки крови и СРБ. Увеличение циркулирующего уровня PAI-1 указывает на состояние хронической активации эндотелия. Это предполагает наличие патогенетической связи между воспалением, эндотелиальными повреждениями и ишемической болезнью сердца, а оценка уровня PAI-1 может служить дополнительным критерием риска коронаростеноза и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов на гемодиализе [24].

Закключение. Развитие и прогрессирование хронической болезни почек ассоциируется со сложными изменениями различных компонентов РААС. При этом результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований подтверждают, что альдостерон является независимым фактором развития и прогрессирования почечных и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ХБП. Дисфункции эндотелия, нарушения в фибринолитической системе и системе гемостаза способствуют повышенному риску развития сосудистых катастроф у пациентов с ХБП, однако уточнение их роли в этих процессах требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Томилина Н. А., Бикбов Б. Т. Эпидемиология хронической почечной недостаточности и новые подходы к классификации и оценке тяжести хронических прогрессирующих заболеваний почек // Тер. архив, 2005; 6 (77): 87–92.

2. Brown N. J., Agirbasli M. A., Williams G. H., Litchfield W. R., Vaughan D. E. Effect of activation and inhibition of the renin angiotensin system on plasma PAI-1 in humans // Hypertension, 1998; 32: 965–71.

3. Brown N. J., Nakamura S., Ma L.-J., Nakamura I., Donnert E., Freeman M., Vaughan D. E., Fogo A. B. Aldosterone modulates plasminogen activator inhibitor-1 and glomerulosclerosis in vivo // Kidney Int., 2000; 58: 1219–27.

4. Brown N. J., Kim K. S., Chen Y. Q., Blevins L. S., Nadeau J. H., Meranze S. G., Vaughan D. E. Synergistic effect of adrenal steroids and angiotensin II on plasminogen activator inhibitor-1 production //

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2000; Vol. 85: 336–344.

5. Brown N. J., Vaughan D. E., Fogo A. B., Aldosterone and PAI-1: Implications for renal injury // J. Nephrol., 2002; 15: 230–235.

6. Chomiki N., Henry M., Alessi M. C., Anfoso F., Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls // Thromb. Haemost., 1994; 72: 44–53.

7. Connell J. M. C., Davies E. The new biology of aldosterone // Journal of Endocrinology, 2005; 186: 1–20.

8. Duymelinck C., Dauwe S. E., Nouwen E. J., De B. M., Verpooten G. A. Cholesterol feeding accentuates the cyclosporine-induced elevation of renal plasminogen activator inhibitor type 1 // Kidney Int., 1997; 51: 1818–30.

9. Epstein M. Aldosterone as a mediator of progressive renal dysfunction: evolving perspectives // *Intern. Med.*, 2001, Jul; 40(7): 573–83.
10. Epstein M. Aldosterone as a determinant of cardiovascular and renal dysfunction // *J. R. Soc. Med.*, 2001 Aug; 94(8): 378–83.
11. Epstein M. Aldosterone receptor blockade and the role of eplerenone: evolving perspectives // *Nephrol. Dial. Transpl.*, 2003; 18(10): 1984–1992.
12. Fuller P. J., Young M. J. Mechanisms of mineralocorticoid action // *Hypertension*, 2005; 46: P. 1227–1246.
13. Hamsten A., Wiman B., de Faire U., Blomback M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction // *N. Engl. J. Med.* 1985; 313: 1557–63.
14. Hamsten A., de Faire U., Walldius G., Dahlen G., Szamosi A., Landou C., Blomback M., Wiman B. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction // *Lancet*, 1987; II: 3–9.
15. Gesualdo L., Ranieri E., Monno R., Rossiello M. R., Colucci M., Semeraro N., Grandaliano G., Schena F. P., Ursi M., Cerullo G. Angiotensin IV stimulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in proximal tubular epithelial cells // *Kidney Int.*, 1999; 56: 461–70.
16. Kagami S., Kuhara T., Okada K., Kuroda Y., Border W. A., Noble N. A. Dual effects of angiotensin II on the plasminogen/plasmin system in rat mesangial cells // *Kidney Int.*, 1997; 51: 664–71.
17. Keeton M., Ahn C., Eguchi Y., Burlingame R., Loskutoff D. J. Expression of type 1 plasminogen activator inhibitor in renal tissue in murine lupus nephritis // *Kidney Int.*, 1995; 47: 148–57.
18. Litchfield W. R., Vaughan D. E., Brown N. J., Wyckoff J. A., Weiss R. J., Williams G. H. Activation of the renin-angiotensin system through dietary sodium restriction increases plasminogen activator inhibitor type 1 levels in essential hypertension (Abstract) // *Hypertension*, 1997; 30: 481.
19. Locatelli F., Del Vecchio L., Pozzoni P. The importance of early detection of chronic kidney disease // *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2002; 17 [Suppl 11]: 2–7.
20. Lowe G., Rumley A., McMahon A. D., Ford I., O'Reilly D., Packard Ch. J. Inter-leukin-6, Fibrin D-Dimer, and Coagulation Factors VII and XIIa in Prediction of Coronary Heart Disease // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2004; 24: 1529–35.
21. Mills J. D., Mansfield M. W., Grant P. J. Tissue Plasminogen Activator, Fibrin D-Dimer, and Insulin Resistance in the Relatives of Patients with Premature Coronary Artery Disease // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2002; 22: 704.
22. Rocha R., Stier C. T. J., Kifor I., Ochoa-Maya M. R., Renneke H. G., Williams G. H., Adler G. K. Aldosterone: a mediator of myocardial necrosis and renal arteriopathy // *Endocrinology*, 2000; 141: 3871–8.
23. Rydzewski B., Zelezna B., Tang W., Sumners C., Raizada M. K. Angiotensin II stimulation of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression in astroglial cells from the brain // *Endocrinology*, 1992; 130: 1255–62.
24. Sabovic M., Salobir B., Preloznik Z. I., Bratina P., Bojec V., Buturovic P. J. The influence of the haemodialysis procedure on platelets, coagulation and fibrinolysis // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.*, 2005; 34(6): 274–278.
25. Saksela O., Rifkin D. B. Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiologic functions // *Annu. Rev. Cell. Biol.*, 1988; 4: 93–126.
26. Sawathiparnich P., Kumar S., Vaughan D. E., Brown N. J. Spironolactone abolishes the relationship between aldosterone and PAI-1 in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (in press). PMID: 11836266.
27. Schneiderman J., Sawdey M. S., Keeton M. R., Bordin G. M., Bernstein E. F., Dilley R. B., Loskutoff D. J. Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 6998–7002.
28. Struthers A. D. Aldosterone: An Important Mediator of Cardiac Remodelling in Heart Failure // *Br. J. Cardiol.*, 2005; 12(3): 211–218.
29. Takeda Y., Miyamori I., Yoneda T., Iki K., Hatakeyama H., Blair I. A., Hsieh F. Y., Takeda R. Production of aldosterone in isolated rat blood vessels // *Hypertension*, 1995; 170–3.
30. Ullian M. E., Schelling J. R., Linas S. L. Aldosterone enhances angiotensin II receptor binding and inositol phosphate responses // *Hypertension*, 1992; 20: 67–73.
31. Van Leeuwen R. T., Kol A., Andreotti F., Kluft C., Maseri A., Sperti G. Angiotensin II increases plasminogen activator inhibitor type 1 and tissue-type plasminogen activator messenger RNA in cultured rat aortic smooth muscle cells // *Circulation*, 1994; 90: 362–8.
32. Vaughan D. E., Lazos S. A., Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells // *J. Clin. Invest.*, 1995; 95: 995–1001.
33. Vaughan D. E., Rouleau J.-L., Ridker P. M., Arnold J. M. O., Menapace F. J., Pfeffer M. A., on behalf of the HEART Study Investigators. Effects of ramipril on plasma fibrinolytic balance in patients with acute anterior myocardial infarction // *Circulation*, 1997; 96: 442–7.
34. Weber K. T., Anversa P., Armstrong P. W., et al. Remodeling and repair of the cardiovascular system // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1992; 20: 3–16.
35. Weber K. T. Aldosterone in congestive heart failure // *N. Engl. J. Med.*, 2001; 345: 1689–1697.
36. Widlansky M. E., Keaney J. F. Jr., Gokce N., Vita J. A. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.* // 2003; 42: 1149–1160.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ НА УРОВЕНЬ ГОМОЦИСТЕИНА ПЛАЗМЫ

В. М. ШМЕЛЕВА*, О. А. СМЕРНОВА*, А. А. ГУРЖИЙ*, Е. В. СЛИВАНКОВА**, Л. П. ПАПАЯН*

* ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Росздрава, Санкт-Петербург

** ГОУ ВПО Медицинская Академия им. И. И. Мечникова Росздрава, Санкт-Петербург

Резюме. Комбинированные гормональные контрацептивы (КГК) являются высокоэффективными средствами контрацепции и используются в терапии патологических состояний, в том числе предменструального синдрома (ПМС). КГК, даже низкодозированные, повышают риск тромботических осложнений. У женщин с тромбофилией прием КГК увеличивает риск развития тромбоза в 3–30 раз. ГГЦ является значимым фактором риска тромбообразования. Имеющиеся данные о динамике уровня ГЦ на фоне применения КГК крайне ограничены и противоречивы. В исследование вошли 60 женщин с ПМС в возрасте от 18 до 40 лет. 40 женщин использовали монофазный низкодозированный КГК – влагалищное кольцо, высвобождающее 15 мкг этинилэстрадиола (ЭЭ) и 120 мкг этногестрела, 20 пациенток принимали комбинированный оральные контрацептив (КОК), содержащий 20 мкг ЭЭ и 150 мкг дезогестрела. Уровень ГЦ определялся до использования КГК, через 3, 6 и 12 месяцев от начала приема КГК. При использовании КОК отмечалась стойкая тенденция к нарастанию уровня ГЦ (7,6–8,6–9,6–10,2 мкМ). Уровень ГЦ не повышался в сравнении с исходными значениями при влагалищном пути введения синтетических стероидов. У 9 пациенток с ПМС ГГЦ была выявлена до назначения КГК. Курс витаминотерапии позволил снизить уровень ГЦ до нормальных значений и в дальнейшем, при использовании влагалищного кольца, показатели ГЦ оставались в пределах нормы. При использовании КОК рекомендуется прием фолиевой кислоты, витамина В₆ и В₁₂.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, оральные контрацептивы, тромбоз.

EFFECT OF COMBINED HORMONAL CONTRACEPTIVES ON HOMOCYSTEINE LEVELS

V. M. SHMELEVA*, O. A. SMIRNOVA*, A. A. GURZHIY*, E. V. SLIVANKOVA**, L. P. PAPAYAN*

* Federal State Institution «Russian Scientific Research Institute of Haematology and Transfusion, Federal Agency for Health Care and Social Development», Saint-Petersburg

** State Educational Institution for Higher Professional Education «I. I. Mechnikov St-Petersburg State Medical Academy, Federal Agency for Health Care and Social Development», Saint-Petersburg

Summary. Combined hormonal contraceptives (CCs) are commonly used for birth control and in treatment of pathological states, such as premenstrual syndrome (PMS). CCs increase the risk of thrombotic complications, particularly in women with thrombophilic state. Hyperhomocysteinemia (HHcy) is significant risk factor for venous and arterial thrombosis. Data concerning the influence of CCs on homocysteine (Hcy) levels are limited and controversial. The aim of our study was to evaluate the effect of non-oral and oral delivery of Ethinyl Estradiol and Desogestrel on Hcy levels. Our study involved 60 women (18–40 yrs) with PMS. For 40 women contraceptive vaginal ring (CVR) and for 20 women combined oral contraceptives (COC) were prescribed. Hcy levels were detected before and after 3, 6 and 12 cycles of CC using. CVR did not affect Hcy levels in patients with normal initial levels. B group multivitamins were administered to 9 persons with initial HHcy. Mean Hcy level decreased from 15.9 to 10.2 $\mu\text{mol/l}$ in this subgroup and didn't increase on CVR use. COC increased Hcy levels (7.6 $\mu\text{mol/l}$ before vs. 8.6–9.6–10.2 $\mu\text{mol/l}$ after 3, 6 and 12 cycles respectively). Taking into account HHcy prothrombotic effects we recommend B group multivitamins to COC users.

Key words: hyperhomocysteinemia, combined hormonal contraceptives, thrombosis.

Комбинированные оральные контрацептивы (КОК) являются высокоэффективными средствами контрацепции и используются огромным количеством женщин во всем мире. Кроме того, назначение КОК является методом лечения ряда патологических состояний, в том числе предменструального синдрома (ПМС), характерного для большей части женщин репродуктивного воз-

раста [2]. Несмотря на многолетний мировой опыт применения КОК, вопросы безопасности их использования продолжают оставаться актуальными. Оральные контрацептивы впервые появились на рынке в 1959 году, и уже в 1961 году была описана тромбоэмболия легочной артерии у женщины, получавшей КОК для лечения эндометриоза [9]. В 1962–63 гг. появились описания

инфаркта миокарда и ишемического инсульта на фоне приема КОК. Эти первые единичные случаи нашли подтверждение в многочисленных последующих клинических и эпидемиологических исследованиях, убедительно показавших, что прием КОК увеличивает риск развития тромбозов как венозных, так и артериальных [7, 10, 15–17]. При этом протромботическим эффектом обладают не только высокодозированные КОК I поколения, но и низкодозированные КОК II и III поколений. Наибольшая опасность тромботических осложнений отмечается в первый год использования КОК [1, 10]. С появлением в 80-е годы прогестагенов III поколения (дезогестрел, норгестимат, гестоден), характеризующихся высоким сродством к рецепторам прогестерона и низким — к рецепторам андрогенов, трехфазные КОК II поколения уступили место монофазной комбинированной контрацепции. Однако многочисленные международные исследования (WHO, GPRD, LETS, Transnational) свидетельствуют о большей тромбоопасности КОК III поколения в сравнении с КОК II поколения. Эстрогены воздействуют на коагуляцию, увеличивая уровни факторов VII, IX, X, XII, XIII, снижая концентрацию протеина S и антитромбина. В целом, создается тенденция к гиперкоагуляции, наиболее отчетливо прослеживаемая в таких глобальных тестах, как резистентность к активированному протеину C и тест генерации тромбина. Показано, что прогестогены сами по себе не влияют на коагуляцию, однако они усиливают действие эстрогенов, причем дезогестрел и гестоден (III поколение прогестогенов) в большей степени, чем левонгестрел (II поколение), приводя к протромботическим изменениям [10, 16]. Предполагалось, что КОК III поколения будут иметь протективное значение при артериальных тромбозах в силу своего положительного воздействия на липидный профиль (повышение ЛПВП и снижение ЛПНП). Однако в многоцентровом популяционном исследовании (RATIO study — Risk of Arterial Thrombosis in relation to Oral Contraceptives) были получены данные об увеличении риска артериальных тромбозов при использовании КОК II и III поколения. Так, например, риск атеросклероза периферических сосудов при использовании КОК повышался в 3 раза. Когда же КОК сочетались с такими классическими факторами риска, как гипертензия, курение, гиперхолестеринемия и диабет, то риск развития атеросклероза увеличивался в 36–50 раз [15]. К факторам, повышающим риск венозного тромбоза при использовании КОК, относятся возраст, ожирение, наличие наследственной и/или приобретенной тромбофилии. Ожирение в 10 раз увеличивает риск тромбообразования при использовании КОК. Многократно увеличивается риск тромбоза при использовании КОК у женщин с наследственным дефицитом протеина C, S, антитромбина [13]. В том случае, когда исходный уровень факторов II, VIII, IX, X, XI превыша-

ет 90 перцентиль в популяции, это ведет к 2–3-кратному повышению риска тромбоза на фоне приема КОК [16]. По данным мета-анализа Wu et al. 2005 года [17], при использовании КОК у носителей мутации фактора V Leiden в гетерозиготной форме риск венозного тромбоза увеличивается в среднем в 15,6 раз (при этом в частных исследованиях показатель относительного риска колеблется от 5,8 до 34,7). В этом же обзоре отмечено, что, несмотря на большое число исследований, посвященных риску развития тромбоза при назначении КОК женщинам с разными формами тромбофилии (201 исследование с 1966 по 2003 гг.), нет ни одной работы, включившей гипергомоцистеинемию и /или носительство 677TT генотипа гена метилентетрагидрофолат редуктазы (МТГФР).

В последние годы отмечен значительный рост числа исследований, посвященных гипергомоцистеинемии (ГГЦ) как одной из причин, обуславливающих развитие тромбофилии. Эту форму тромбофилии выделяют из общего ряда следующие клинически значимые аспекты:

- 1) тромбофилия, ассоциированная с ГГЦ, проявляется как артериальными, так и венозными тромбозами;
- 2) ГГЦ с высокой частотой встречается в популяции, так как может быть и наследственной и приобретенной;

- 3) нормализация уровня ГЦ достигается путем применения доступных, безопасных и недорогих витаминных препаратов (фолиевая кислота, B_6 и B_{12}).

Нами ранее продемонстрировано, что ГГЦ является независимым и значимым предиктором тромбообразования в популяции Северо-Западного региона России. Риск развития венозного тромбоза при ГГЦ увеличивается в 4,8 раза, артериального — в 5 раз, облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей — в 5,6 раза [3]. Протромботический потенциал ГГЦ реализуется путем токсического влияния на сосудистую стенку; усиления высвобождения цитокинов и хемокинов, адгезии лейкоцитов, активации как тромбоцитарного, так и коагуляционного звеньев гемостаза; усиления генерации тромбина, снижения активности системы естественных антикоагулянтов и фибринолиза. Указанные патогенетические механизмы приводят к развитию при ГГЦ как артериальных, так и венозных тромбозов. Ведущим патогенетическим звеном при ГГЦ является дисфункция эндотелия, проявляющаяся угнетением его антикоагулянтных и активации прокоагулянтных свойств. Биохимической основой данного процесса является инициируемый избытком ГЦ оксидантный стресс [4]. Гомоцистеин (ГЦ) является промежуточным продуктом обмена метионина в организме и в нормальных условиях метаболизируется в ходе двух основных реакций: реметилирования с участием ферментов МТГФР и метионин-синтазы, витамина B_{12} как кофактора и 5-метилтетра-гидрофолата как донора метильной груп-

пы; и сульфурирования при участии фермента цистатионин-β-синтазы в присутствии витамина В₆. Основными причинами развития ГГЦ являются генетические дефекты, приводящие к неполноценности вышеуказанных ферментов, а также снижение уровня витаминов-кофакторов, необходимых для метаболизма гомоцистеина. Показано, что при приеме КОК может существенно (на 30%) снижаться содержание в организме витаминов В₂, В₁₂ и В₆ [1, 4]. Эстрогены, даже в дозах менее 50 мкг, нарушают кинетику фолатов. Первое поколение оральных контрацептивов, содержавших высокие дозы эстрогенов, значимо уменьшало содержание фолатов в организме [6]. Интересно также и то, что по данным Hladovec et al. прием КОК достоверно снижал толерантность к метионину у молодых женщин, т. е. приводил к скрытой ГГЦ, выявляемой в тесте с метиониновой нагрузкой. Этот феномен можно было предотвратить назначением витамина В₆ [8]. Доступные зарубежные данные об изменении уровня ГЦ при использовании КОК малочисленны и противоречивы. Так, в исследовании NHANES выявлено повышение уровня ГЦ [11], в то время как в работе Bratsstrom et al. изменений уровня ГЦ при приеме гормональных контрацептивов не отмечалось [3]. Частично данные противоречия могут объясняться тем, что уровень ГЦ зависит от гормональной фазы цикла. Steegers-Theunissen et al. [14] показали, что уровень ГЦ повышен при низкой концентрации синтетических гормонов (во время менструальноподобного кровотечения и в первую фазу цикла). Во второй фазе цикла с высоким содержанием гормонов уровень ГЦ снижен. Кроме того, показано, что влияние гормональных контрацептивов на систему гемостаза зависит и от способа их введения [1]. Данные об изменении уровня ГЦ при влагалищном пути введения гормональных контрацептивов отсутствуют как в отечественной, так и в зарубежной литературе.

Цель исследования

Оценить влияние комбинированных оральных контрацептивов, содержащих этинилэстрадиол и дезогестрел на уровень гомоцистеина при пероральном и влагалищном путях их введения.

Материалы и методы

В исследование включались женщины в возрасте от 18 до 40 лет с симптомами ПМС при отсутствии противопоказаний для использования КОК в соответствии с категориями приемлемости, разработанными экспертами ВОЗ (3-е издание, 2004 г., Женева). Критериями включения в исследование также было отсутствие использования гормональной контрацепции в течение последних трех месяцев до начала исследования, отсутствие планов на беременность в течение всего времени исследования, отсутствие органической патологии ЦНС

и психических заболеваний. Все пациентки подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. В исследование вошли 60 женщин с ПМС в возрасте от 18 до 40 лет (средний возраст 30 лет). Длительность течения ПМС составляла от 2 до 11 лет (в среднем $8,8 \pm 2,2$ года). Для лечения ПМС использовался монофазный низкодозированный гормональный контрацептив — влагалищное кольцо, высвобождающее 15 мкг этинилэстрадиола (ЭЭ) и 120 мкг этоноргестрела (первичный активный метаболит дезогестрела) в день либо низкодозированный комбинированный оральный контрацептив, содержащий 20 мкг ЭЭ и 150 мкг дезогестрела. У 40 женщин в качестве терапии ПМС использовались влагалищные кольца, у 20 пациенток — КОК. Контрольную группу составили 50 здоровых женщин в возрасте от 17 до 40 лет (средний возраст $28,3 \pm 2,5$), не принимающих КГК. Уровень ГЦ определяли методом жидкостной хроматографии под высоким давлением [3]. Уровень ГЦ определялся до использования КГК, через 3, 6 и 12 месяцев от начала приема КГК. Статистический анализ проводился при помощи пакета Stat Pad Prism.

Результаты

Средний уровень ГЦ в контрольной группе составил $8,5 \pm 2,4$ мкМ. Уровень ГЦ выше 95% перцентиля в контрольной группе ($13,3$ мкМ) расценивался как ГГЦ. Частота встречаемости ГГЦ в контрольной группе составила 3%, что соответствует данным по другим европейским популяциям. При динамическом наблюдении уровень ГЦ в контрольной группе практически не изменялся. Средний уровень ГЦ у женщин с ПМС составил $9,3 \pm 3,7$ мкМ. Частота встречаемости ГГЦ у женщин с ПМС составила 15% (9 человек), т. е. была достоверно выше, чем в контроле ($p < 0,001$). В подгруппе пациенток с исходной ГГЦ ($n = 9$) средний уровень ГЦ составил $15,9 \pm 1,5$ мкМ. При выявлении исходно повышенных значений ГЦ в течение месяца проводилось патогенетическое лечение ГГЦ витаминами группы В (прием фолиевой кислоты 5 мг/сут, витамина В₆ 4 мг/сут и витамина В₁₂ 6 мкг/сут), что позволило снизить уровень ГЦ до нормального ($10,0 \pm 3,2$ мкМ). Показатели плазменно-коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза у этих пациенток были в пределах нормы, мутаций в гене протромбина и V Leiden не было. Учитывая вышесказанное, пациентки не были исключены из исследования. В качестве терапии ПМС они использовали влагалищное кольцо, получая параллельно профилактические курсы витаминотерапии. При дальнейшем наблюдении в течение года уровень ГЦ в данной подгруппе не нарастал (рис. 1). Контрацептивные влагалищные кольца также использовались у 31 пациентки с исходно нормальными значениями ГЦ. Уровень ГЦ в этой подгруппе практически не изменялся (рис. 1).

Рис. 1. Динамика уровня гомоцистеина на фоне применения контрацептивного влагалищного кольца

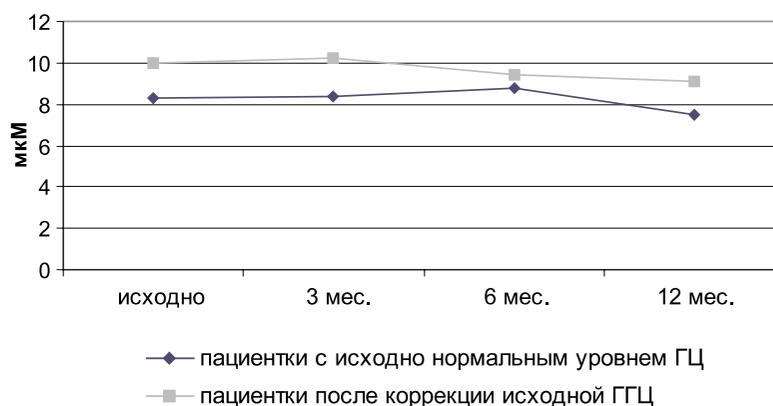
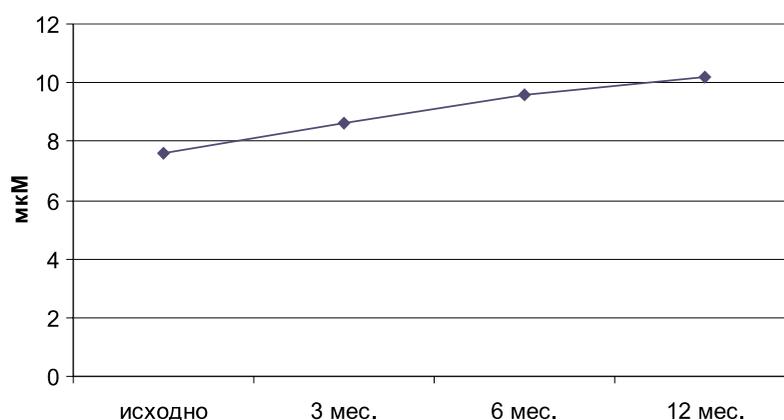


Рис. 2. Динамика уровня гомоцистеина на фоне применения КОК



В третью подгруппу вошли 20 пациенток с исходно нормальными значениями ГЦ, которым для терапии ПМС назначались КОК. На рис. 2 отчетливо прослеживается тенденция к нарастанию уровня ГЦ в данной подгруппе.

Обсуждение

Результаты настоящего исследования показывают, что монофазный низкодозированный гормональный контрацептив — влагалищное кольцо, высвобождающее 15 мкг этинилэстрадиола (ЭЭ) и 120 мкг этоноргестрела, при использовании в течение года не вызывает статистически значимых изменений уровня ГЦ. В то же время при использовании низкодозированного комбинированного оральное контрацептива, содержащего 20 мкг ЭЭ и 150 мкг дезогестрела, отмечается отчетливая тенденция к нарастанию уровня ГЦ. В данной работе также впервые отмечена достаточно высокая частота встречаемости ГГЦ у пациенток с ПМС. При этом применение витаминов группы В эффективно устраняет ГГЦ и позволяет проводить профилактику тромботических осложнений, ассоциированных с данной формой тромбофилии, особенно при суммации с таким признанным фактором риска, как прием КОК. По нашим данным, прием КОК III поколения в течение 1 года не ведет к

формированию явной ГГЦ при исходно нормальных значениях ГЦ и отсутствии дополнительных индукторов ГГЦ. Однако использование КОК повышает содержание ГЦ в плазме в среднем на 3–4 мкМ. Ранее было доказано, что патологический эффект ГГЦ дозо-зависим и отмечается при значениях ГЦ выше 9 мкМ. Nygard O. et al. [12] наблюдали в течение 5 лет 587 пациентов с ишемической болезнью сердца. Из пациентов с исходным уровнем ГЦ ниже 9 мкМ умерло 3,8% против 24,7% — среди пациентов с исходным уровнем ГЦ выше 15 мкМ. В сравнении с группой с самыми низкими значениями ГЦ (ниже 9 мкМ) риск общей смертности увеличивался в 1,9 раза при уровне ГЦ 9–14,9 мкМ независимо от других факторов риска. По нашим собственным данным, при уровне ГЦ >10 мкМ достоверно увеличивается относительный риск развития венозного тромбоза — RR = 1,8 (p = 0,0009), при уровне ГЦ >13,4 мкМ риск нарастает до 3,1 (p < 0,0001). По данным Норвежского проспективного исследования, включившего 22 000 человек, у лиц с повышенным уровнем ГЦ сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) диагностировались достоверно чаще, причем каждые 4 мкМ дополнительно повышали риск развития ССЗ в 1,3 раза. В Роттердамском проспективном исследовании установлено, что повышение ГЦ на 1 мкМ увеличивает риск инсульта и

инфаркта миокарда соответственно на 6 и 7% [4]. По данным Американской ассоциации кардиологов, эффект от снижения уровня ГЦ на 3 мкМ в США после введения обогащения продуктов питания фолиевой кислотой позволяет предотвратить 17 000 смертей от ССЗ в год [6]. Приведенные факты говорят о том, что отмеченное в нашей работе повышение уровня ГЦ может иметь дополнительное протромботическое влияние, которое при суммации с известными подпороговыми прокоагулянтными изменениями на фоне приема КОК может реализоваться в тромботический эпизод. Если для женщин репродуктивного возраста абсолютный риск тромбообразования в среднем составляет менее 1 на 10 000 в год, то при использовании КОК II поколения он увеличивается до 12 на 10 000 в год, а III поколения — до 30 на 10 000 в год [7]. КОК остаются наиболее частой причиной тромботических осложнений у молодых женщин, и минимизация протромботической опасности при гормональной контрацепции остается важнейшей задачей. Принимая во внимание достаточно высокую частоту встречаемости наследственной и приобретен-

ной ГЦ в популяции в целом, невозможность внедрения определения уровня ГЦ как скринингового теста до начала гормональной контрацепции, а также нарастание уровня ГЦ при приеме КОК III поколения (наиболее распространенного в настоящее время способа контрацепции), целесообразны и оправданы рекомендации по профилактическому приему фолиевой кислоты, витаминов В₆ и В₁₂ при использовании контрацептивных стероидов.

Выводы

Частота встречаемости ГЦ у пациенток с ПМС достоверно выше, чем в контрольной группе, и составляет 15%. При влагалищном пути введения КГК статистически значимых изменений уровня ГЦ не выявлено. При приеме КОК III поколения отмечается устойчивая тенденция к повышению уровня ГЦ. Прием фолиевой кислоты, витаминов В₆ и В₁₂ в лечебных дозировках позволяет эффективно устранять ГЦ и поддерживать уровень ГЦ в пределах нормальных колебаний при использовании КОК.

Литература

1. Макацария А. Д., Бицадзе В. О. Тромбофилические состояния в акушерской практике // Москва, 2001. — 703 с.
2. Межевитинова Е. А. Предменструальный синдром и комбинированные гормональные контрацептивы // Гинекология, 2002. № 6. — С. 250–253.
3. Шмелева В. М., Капустин С. И., Блинов М. Н., Папаян Л. П. Гипергомоцистеинемия — значимый фактор риска развития артериальных и венозных тромбозов // Медицинский академический журнал, 2003. — 3(4). — С. 28–34.
4. Bolander-Gouaille C. Focus on Homocysteine and the Vitamins involved in its metabolism // 2002 — Springer Verlag France. — 217 p.
5. Brattstrom L., Israelson B., Olsson A. et al. Plasma homocysteine in women on oral oestrogen-containing contraceptives and in men with oestrogen-treated prostatic carcinoma // Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1992. — 52. — 283–87.
6. Carmel R., Jacobsen D. W. Homocysteine in Health and Disease // 2001. — Cambridge University Press. — 500 p.
7. Herings R., Urquhart J., Leufkens H. et al. Venous thromboembolism among new users of different oral contraceptives // Lancet., 1999. — Vol. 354. — P. 127–128.
8. Hladovec J., Koutsky J., Prerovsky D. et al. Oral contraceptives, methionine and endothelial lesion // Vasa, 1983. — Vol. 12. — P. 117–20.
9. Jordan W. M. Pulmonary embolism // Lancet., 1961, ii: 1146–47.
10. Kemmeren J., Algra A., Grobbee D. Third generation oral contraceptives and risk of venous thrombosis: meta-analysis // Br. Med. J., 2001. — Vol. 323. — P. 131–134.
11. Morris M. S. et al. Total homocysteine and estrogen status in the Third National Health and Nutrition Examination Survey // Am. J. Epidemiology, 2000. — Vol. 15. — P. 140–148.
12. Nygard O., Nordrehaug J., Refsum H. et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease // N. Engl. J. Med., 1997. — Vol. 337(4). — P. 230–236.
13. Rosendaal F. R., Helmerhorst F., Vandenbroucke J. et al. Estrogens, progesterones and thrombosis // J. Thromb. Haemost., 2003. — Vol. 1. — P. 1371–1380.
14. Steegers-Theunissen R. P., Boers G. H., Steegers E. A. et al. Effects of sub-50 oral contraceptives on homocysteine metabolism: A preliminary study // Contraception, 1992. — Vol. 45. — P. 129–39.
15. Van Den Bosh M., Kemmeren J., Tanis B. et al. The RATIO study: oral contraceptives and the risk of peripheral arterial disease in young women // J. of Thromb. and Haemost., 2003. — Vol. 1. — P. 439–444.
16. Van Hylckama V., Rosendaal F. R. Interaction between oral contraceptive use and coagulation factor levels in deep venous thrombosis // J. Thromb. and Haemost., 2003. — Vol. 1. — P. 2186–2190.
17. Wu C., Robertson L., Langhorne P. et al. Oral contraceptives, hormone replacement therapy, thrombophilias and risk of venous thromboembolism: a systematic review // Thromb. Haemost., 2005. — Vol. 94. — P. 17–25.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА СМЕРТЕЛЬНОГО ИСХОДА

Ю. В. ПЕРВУШИН, И. В. САННИКОВА, А. Д. ПАСЕЧНИКОВ,
Н. И. КОВАЛЕВИЧ, И. В. СИВУН, Д. А. КИСЛИЦКАЯ
ГОУ ВПО Ставропольская государственная медицинская академия

Резюме. С 1999 г. в Ставропольском крае отмечается активизация природного очага и рост заболеваемости Крымской-Конго геморрагической лихорадкой (ККГЛ). За последние 8 лет в крае зарегистрировано 283 больных, из них у 6% заболевание закончилось смертельным исходом. ККГЛ относится к потенциально фатальным инфекционным заболеваниям. Целью настоящего исследования явилось изучение сдвигов в системе гемостаза, исследование факторов риска, предикторов тяжелого течения и летальности ККГЛ. Установлены особенности нарушения гемостаза и их динамика у больных с тяжелым течением ККГЛ. Определены в качестве факторов риска лабораторные показатели состояния гемостаза и печеночной недостаточности. Доступность данных критериев в клинической практике позволит своевременно прогнозировать риск развития неблагоприятных последствий. Проведен анализ тяжелого течения ККГЛ у больных с различными исходами болезни. Определение факторов риска на ранних этапах развития болезни, организация медицинской помощи больным, а также адекватная лечебно-диагностическая программа ведения больных определяют возможности выздоровления.

Ключевые слова: Крымская-Конго геморрагическая лихорадка, нарушения гемостаза, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания, факторы риска, предикторы летального исхода.

HEMOSTASIS AND RISK FACTORS FOR LETHAL OUTCOME IN PATIENTS WITH KRIMEAN-KONGO HEMORRHAGIC FEVER

JU. V. PERVUSHIN, I. V. SANNIKOVA, A. D. PASECHNIKOV,
N. I. KOVALEVICH, I. V. SIVUN, D. A. KISLITSKAYA
State Educational Institution for Higher Professional Education «Stavropol State Medical Academy,
Federal Agency for Health Care and Social Development»

Summary. Since 1999 in Stavropol region increasing prevalence of Krimean-Kongo hemorrhagic fever is observed. During last 8 years 283 cases were revealed, 6% of these patients died. Krimean-Kongo hemorrhagic fever is a potentially fatal infectious disease. The aim of present study was to evaluate hemostasis changes, risk factors and predictors of severe course and lethality in Krimean-Kongo hemorrhagic fever. We revealed the peculiarities of hemostasis disturbances in patients with Krimean-Kongo hemorrhagic fever and changes of these indicators in patients with severe course of the disease. Risk factors for unfavorable course of the disease including laboratory signs of hemostasis changes and liver failure were stated. These criteria are easy to be determined in clinical practice. These criteria are helpful for early prognosis of unfavorable consequences of the disease. Analysis of severe course of the disease in patients with different outcomes was performed. Evaluation of risk factors at early stages of the disease, organization of medical care and adequate diagnostic and treatment programs are necessary for convalescence of patients.

Key words: Krimean-Kongo hemorrhagic fever, disseminated intravascular coagulation syndrome.

Введение. Нарушения гемостаза наблюдаются при многих инфекционных заболеваниях и часто определяют тяжесть заболевания и фатальный исход. За последнее десятилетие в структуре инфекционных заболеваний особую актуальность приобрели вирусные геморрагические лихорадки (ВГЛ). Широкое географическое распространение природных очагов ВГЛ, высокий уровень смертельных исходов и возможность использовать возбудителей в качестве биологического оружия определяют актуальность проблемы и необходимость решения

вопросов оперативной диагностики, лечения и защиты населения [1–3].

Одним из самых грозных нарушений гемостаза при ВГЛ является развитие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (СДВС). Наиболее тяжелые проявления СДВС отмечены при лихорадке Эбола и Крымской-Конго геморрагической лихорадке (ККГЛ) [4].

ККГЛ относится к зоонозным, природно-очаговым арбовирусным инфекционным заболеваниям (возбуди-

тель вирус рода *Nairovirus*, семейства *Bunyavirida*) и регистрируется на обширной территории Африки, Азии и Восточной Европы [5]. Характерным признаком ККГЛ является прогрессирующее воспаление, проявляющееся развитием геморрагий, миалгии и лихорадки. В фатальных случаях отмечено стремительное развитие СДВС, поражение печени, легких, приводящих к синдрому полиорганной недостаточности (СПОН) [6]. Развитие СДВС и внутренних кровотечений обуславливают высокую смертность, варьирующую от 8 до 80% [7–10].

С 1999 г. на юге России отмечается стремительный рост заболеваемости ККГЛ [11, 12]. Большое количество заболевших, тяжелое течение заболевания и его недостаточная изученность являются основанием для дальнейшего изучения ККГЛ.

Целью настоящей работы явилось исследование показателей гемостаза у больных ККГЛ и определение факторов риска смертельного исхода.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находились 283 больных ККГЛ, проходивших лечение в инфекционных отделениях различных лечебно-профилактических учреждений Ставропольского

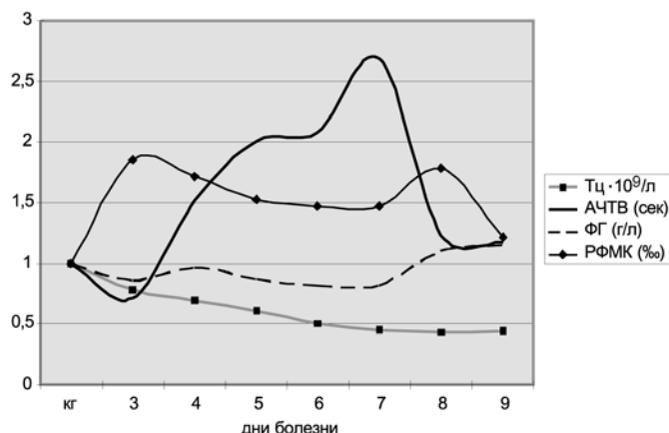


Рис. 1. Относительное изменение Тц, АЧТВ, ФГ и РФМК при ККГЛ

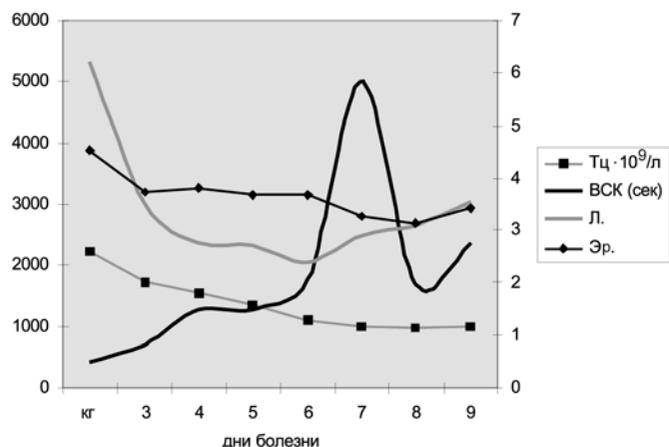


Рис. 2. Изменение Тц, ВСК, Л и Эр при ККГЛ

края в 1999–2006 гг. Средний возраст больных составлял $39,1 \pm 2,1$ лет, мужчины ($n = 178$) и женщины ($n = 105$) примерно равного возраста ($34,8 \pm 1,59$ и $40,11 \pm 1,94$ соответственно). У 17 (6%) пациентов заболевание закончилось смертельным исходом. Диагностика ККГЛ основывалась на эпидемиологических критериях, клинических данных и данных лабораторного исследования, включавших определение специфических противовирусных антител методом иммуноферментного анализа и обнаружение РНК вируса ККГЛ методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. В программу обследования больных были включены лабораторные исследования периферической крови, а также биохимические и гемостазиологические показатели.

При проведении анализа факторов риска и прогнозирования исходов ККГЛ были включены 40 больных с тяжелым течением заболевания. Первую группу (Г) составили выздоровевшие больные с исходно тяжелым течением заболевания ($n = 24$), во вторую группу вошли больные ($n = 16$) с летальным исходом болезни; 30 здоровых лиц составили контрольную группу (КГ).

Для прогнозирования вероятного исхода ККГЛ использовался многовариантный анализ взаимосвязи количественных факторов риска методом логистической регрессии [13]. В качестве вероятных факторов риска рассматривали количественные лабораторные показатели, отражающие состояние периферической крови, гемостаза и функции печени. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы *Epi Info* (версия 3.3.2) [14].

Результаты и их обсуждение. Нами установлено, что нарушение гемостаза у больных ККГЛ первой группы развивалось рано: уже с 3-х суток заболевания начало постепенно удлиняться время свертывания крови (ВСК) и к 7 суткам оно в 12 раз превышало показатели КГ. Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) на 3 день ККГЛ достоверно укорачивалось в среднем на 30%, что в сочетании со значительным повышением растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК; с $3,5 \pm 0,08$ % до $6,5 \pm 0,24$ %; $p < 0,001$) и снижением концентрации фибриногена (ФГ) свидетельствует о развитии СДВС. В дальнейшем нарастали явления гипокоагуляции (удлинение ВСК, АЧТВ, ЧТВ и активированного времени рекальцификации; рис. 1–2) на фоне повышенного уровня РФМК (на 50–75% выше, чем в КГ) и низких концентраций фибриногена (на 6–7 сутки — $2,54 \pm 0,16$ г/л; рис. 1–2).

Все эти сдвиги в системе гемостаза происходили на фоне значительного прогрессивного снижения содержания тромбоцитов (Тц; рис 1–2). Для ККГЛ прогрессирующая тромбоцитопения является общепризнанным лабораторным маркером. Содержание Тц в первой группе больных в среднем на 7–9 сутки достигало $(97–99) \cdot 10^9$ /л ($p < 0,001$). При этом у 4 больных уровень Тц был менее $50 \cdot 10^9$ /л, в ряде случаев достигая $(7–15) \cdot 10^9$ /л.

Лабораторные факторы риска, связанные с исходом ККГЛ при одновариантном анализе

Показатель	OR	95% CI Lower	95% CI Upper	p
Эр	8	1,47	53,82	<0,05
Тц	4,58	0,94	25,04	<0,05
ВСК	8,87	1,31	68,41	<0,05
ПИ	15	1,5	700,05	<0,05
Билирубин	не установлено	3,24	не установлено	<0,05
АЛТ	20	2,4	231,84	<0,05
АЧТВ	16	1,31	239,57	<0,05

OR — соотношение шансов; CI — доверительный вариант; CI Lower — нижняя граница доверительного варианта; CI Upper — верхняя граница доверительного варианта; p — статистически значимый результат вероятности в сравнении I и II групп (использовался критерий χ^2 , χ^2 с поправкой Йейтса, критерий Фишера).

Динамика изменения Тц у больных второй группы была аналогичной, но средние цифры в каждые сутки были существенно и достоверно ниже, чем в первой группе (так, на 7–8 сутки они составляли $(75-66) \cdot 10^9/\text{л}$). В группе с летальным исходом болезни мы наблюдали переход в 4 фазу СДВС: выраженное снижение Тц сочеталось со значительным удлинением АЧТВ, АВР, ВСК, очень низкими концентрациями фибриногена (определение невозможно), снижением протромбинового индекса (ПИ) до 50%, значительным ростом РФМК.

У подавляющего большинства больных ККГЛ было отмечено значительное снижение агрегационной способности Тц. При исследовании Тц с ристоцетином, АДФ и адреналином агрегация уже на 2–3 сутки была угнетена, в среднем, до 20%. Наиболее низкие цифры агрегации (4–9%) наблюдали на 5–6 сутки при действии адреналина и ристоцетина, и на 7 сутки при действии АДФ. При использовании в качестве индуктора коллагена сдвиги агрегации Тц менее выражены.

В качестве возможных факторов риска летального исхода заболевания нами рассмотрены снижение количества эритроцитов (Эр), Тц и лейкоцитов (Л), ПИ, Фг, удлинение ВСК и АЧТВ, повышение уровня билирубина и трансаминаз (АСТ и АЛТ) в периферической крови. Динамика этих показателей представлена на рис. 1–2.

При проведении одновариантного анализа выявлена достоверная связь между снижением Эр ($\leq 2,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$), Тц ($\leq 55 \cdot 10^9/\text{л}$) в периферической крови и развитием летального исхода ККГЛ (OR = 8; 95% CI [1,47–53,82], $p < 0,05$ и OR = 4,58; 95% CI [0,94–25,04], $p = 0,03$, соответственно). Вероятность летального исхода ККГЛ увеличивается при удлинении ВСК ≥ 2400 сек (OR = 8,87; 95% CI [1,31–68,41]; $p = 0,01$) и АЧТВ $\geq 113,5$ сек (OR = 16; 95% CI [1,31–239,57]; $p = 0,01$) и снижении ПИ $\leq 67\%$ (OR = 15; 95% CI [1,5–700,05]; $p = 0,006$).

Нарушения функции печени у больных ККГЛ проявлялись в виде умеренной активности АЛТ, АСТ и повышения уровня билирубина. При проведении одновариантного анализа установлено, что существует вза-

Таблица 2

Многовариантный анализ лабораторных факторов риска, связанных со смертельным исходом при ККГЛ

Лабораторный показатель	Значение	p
АЛТ	≥ 2 N	0,01
ПИ	$\leq 67\%$	0,04
АЧТВ	$\geq 113,5$ сек	0,04
Тц	$\leq 55 \cdot 10^9/\text{л}$	0,03

p — критерий достоверности.

имосвязь между уровнем билирубина в сыворотке крови ≥ 28 мкмоль/л и неблагоприятным исходом ККГЛ ($p = 0,0003$). Однако малое количество наблюдений не позволило выполнить расчет OR и 95% CI. Одновариантный анализ выявил в качестве фактора риска повышение активности АЛТ ≥ 2 норм (OR = 20; 95% CI [2,4–231,84]; $p = 0,001$) (табл. 1).

При проведении многовариантного анализа факторов риска, связанных с исходом болезни, установлено, что самостоятельное или независимое значение ($p < 0,05$) имеют показатели АЛТ, ПИ, АЧТВ и Тц (табл. 2).

Для прогнозирования вероятного исхода ККГЛ при различных сочетаниях установленных факторов риска использовался многовариантный анализ взаимосвязи количественных факторов риска методом логистической регрессии. Вероятность летального исхода при сочетаниях факторов риска варьировала от 66,8 до 98,9%. Наибольшая вероятность этого неблагоприятного исхода заболевания (98,9%) существует при одновременном снижении в периферической крови Эр $\leq 2,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$, Тц $\leq 55 \cdot 10^9/\text{л}$ и ПИ $\leq 67\%$.

Длительное время развитие кровотечений при ВГЛ связывали с повышенным потреблением факторов коагуляции. В 1967 г. McКау и Margaretten предположили, что основной причиной геморрагий при ВГЛ является развитие СДВС [15]. Общепризнанным считается, что

из всех ВГЛ развитие СДВС с учетом выявленных гемостазиологических нарушений является очевидным для лихорадки Эбола и ККГЛ [16] в отличие от других, где полученные данные трактуются неоднозначно и часто являются противоречивыми. Основными составляющими гемостазиологических нарушений при ККГЛ являются снижение количества Тц с нарушением их функций [4, 17] и повреждение эндотелия [18, 19] с последующей активацией плазменного гемостаза. Вирус ККГЛ запускает проявления заболевания, воздействуя непосредственно на клетки-мишени и опосредованно путем активации иммунного и воспалительного ответа организма. Эти два основных механизма повреждений действуют параллельно и зависят от особенностей вируса и иммунного ответа инфицированного организма [20].

Выявленные изменения гемостаза — удлинение ВСК, АЧТВ, ЧТВ, АВР, снижение уровня факторов коагуляции крови и увеличения количества продуктов деградации фибрина (РФМК) уже на ранних этапах развития инфекционного процесса при ККГЛ соответствуют критериям СДВС. В более поздние сроки разви-

тия болезни в развитие гемостазиологических нарушений определенным вклад вносит дисфункция печени. По выявленным лабораторным данным (повышение билирубина, активности АЛТ, АСТ, снижении ПИ), свидетельствующим о развитии печеночной недостаточности, можно считать, что поражение печени при ККГЛ играет значительную роль в развитии гемостазиологических нарушений и фатального исхода. Немногочисленные исследователи констатировали выраженные нарушения гемостаза при ККГЛ уже на ранних сроках развития заболевания [4, 21]. При фатальном исходе ККГЛ были получены данные, свидетельствующие о развитии СДВС с учетом общепринятых критериев: увеличение протромбинового времени и РФМК, удлинение АЧТВ и ВСК. Такие лабораторные показатели, как удлинение АЧТВ и снижение количества фибриногена, были определены как факторы риска смертельного исхода заболевания [4]. Выявленные предикторы смертельного исхода ($\text{Эр} \leq 2,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$, $\text{Тц} \leq 55 \cdot 10^9/\text{л}$ и $\text{ПИ} \leq 67\%$) доступны в клинической практике, что позволяет своевременно прогнозировать неблагоприятный исход заболевания.

Литература

1. Вирусные геморрагические лихорадки // Докл. Ком. Экспертов ВОЗ. — Серия техн. докл. № 721. Женева. — С. 4–52; 82–104; 110–118.
2. Borio L., Inglesby T., Schmaljohn A. L. et al. Hemorrhagic fever viruses as biological weapons // JAMA. — 2002. — V. 287. — N 18. — P. 2391–2405.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Update: management of patients with viral hemorrhagic fever — United States // MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep. — 1995. — V. 44. — P. 479–9.
4. Swanepoel R., Gill D. E., Shepherd A. J. et al. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever // Rev. Infect. Dis. — 1989. — 11 (Suppl. 4). — S. 794–800.
5. Львов Д. К., Клименко С. М., Гайдамович С. Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. — М. — 1989. — 336 с.
6. Ergonul O., Celikbas A., Dokuzoguz B. et al. The characteristics of Crimean-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and the impact of oral ribavirin therapy // Clin. Infect. Dis. — 2004. — V. 39. — P. 285–289.
7. Viral hemorrhagic fever: initial management of suspected and confirmed cases // MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep. — 1983. — V. 32 (2S). — P. 27–39.
8. Schwarz T. F., Nitschko H., Jager G. et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever in Oman // Lancet. — 1995. — V. 346. — P. 1230.
9. Williams R. J., Al-Busaïdy S., Mehta F. R. et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever: a seroepidemiological and tick survey in the Sultanate of Oman // Trop. Med. Int. Health. — 2000. — V. 5. — P. 99–106.
10. Khan A. S., Maupin G. O., Rollin P. E. et al. An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates 1994–1995 // Am. J. Trop. Med. Hyg. — 1997. — V. 57(5). — P. 519–525.
11. Онищенко Г. Г. Распространение вирусных природно-очаговых инфекций в Российской Федерации и меры по их профилактике // Эпидемиол. и инфекцион. бол. — 2000. — № 4. — С. 4–8.
12. Онищенко Г. Г., Ефременко В. И., Бейер А. П. и др. Обстановка по Крымской геморрагической лихорадке в Южном федеральном округе // Микробиология, эпидемиология и иммунология. — 2005, № 4 (приложение). — С. 5–12.
13. Dawson B., Trapp R. G. Basic & Clinical Biostatistic Forth edition. Lange Medical Books // McGraw-Hill, Medical Publishing Division. — 2004. — 261–263 p.
14. Dean A. G. A course in microcomputer use for epidemiologists and others who count things, using Epi Info™. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, Epidemiology Program Office, 1994.
15. McKay D. G., Margaretten W. Disseminated intravascular coagulation in virus diseases // Arch. Intern. Med. — 1967. — V. 120. — P. 129–152.
16. Jones S. et al. Replicating vectors for vaccine development // VRC Symposium on Viral Hemorrhagic Fevers, Bethesda, MD, October 14–17. — 2003.
17. Swanepoel R., Leman P. A., Burt F. J. et al. Experimental infection of ostriches with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus // Epidemiol. Infect. — 1998, V. 121. — P. 427–432.
18. Joubert J. R., King J. B., Rossouw D. J., Cooper R. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part III. Clinical pathology and pathogenesis // S. Afr. Med. J. — 1985. — V. 68. — P. 722–728.
19. Burt F. J., Swanepoel R., Shieh W. J. et al. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis // Arch. Pathol. Lab. Med. — 1997. — V. 121. — P. 839–846.
20. Chen J. P., Cosgriff T. M. Hemorrhagic fever virus-induced changes in hemostasis and vascular biology // Blood Coagulation and Fibrinolysis. — 2000. — V. 11. — P. 461–483.
21. Al-Tikriti S. K., Al-Ani F., Jurji F. J. et al. Congo-Crimean haemorrhagic fever in Iraq // Bull. World Health Org. — 1981. — V. 59. — P. 85–90.

ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА

О. А. СМЕРНОВА

ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Росздрава, Санкт-Петербург

Резюме. Острые формы ишемической болезни сердца (нестабильная стенокардия и инфаркт миокарда) определяются термином «острый коронарный синдром» (ОКС) и в настоящее время являются одной из ведущих причин смертности населения. Известно, что значимым фактором риска атеросклеротического поражения сосудов миокарда и атеротромботических осложнений является гипергомоцистеинемия (ГГЦ). В данной работе у 45 пациентов с диагнозом ОКС проведено определение уровня гомоцистеина (ГЦ) и комплексное исследование системы гемостаза. Контрольную группу составили 58 здоровых лиц. Частота встречаемости ГГЦ у пациентов в острый период ОКС составила 33% против 8,6% в контрольной группе ($p < 0,05$). Средний уровень ГЦ в группе пациентов как в острый период, так и на 14 сутки течения был достоверно выше, чем в контрольной группе (13,3 и 12,7 мкмоль/л vs 9,9 мкмоль/л, соответственно, $p < 0,05$). Установлено, что для пациентов с ОКС характерно усиление гемостатического потенциала крови, что подтверждается увеличением активности фактора VIII и фактора Виллебранда, уровня D-димера, концентрации фибриногена и повышением показателей внутрисосудистой активации тромбоцитов. У пациентов с ГГЦ активация процесса коагуляции и нарушения как в системе фибринолиза, так и в системе естественных антикоагулянтов были более выраженными.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, острый коронарный синдром, гемостаз.

HEMOSTATIC DISORDERS IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROMES DEPENDING ON TOTAL HOMOCYSTEINE LEVEL

O. A. SMIRNOVA

Federal State Institution «Russian Scientific Research Institute of Hematology and Transfusiology,
Federal Agency for Health Care and Social Development», Saint-Petersburg

Summary. The acute coronary syndrome (ACS) is still remaining the one of the leading causes of mortality. It is known that hyperhomocysteinemia (HHcy) is an established risk factor for cardiovascular disease. We assessed the plasma total homocysteine level (tHcy) and changes in hemostasis in patients with ACS in acute and convalescence periods. Our study comprised 45 patients and 58 healthy subjects. We measured tHcy and the following hemostatic factors: screening tests, platelet activity, activity of factor VIII, von Willebrand factor (VWF), antithrombin, D-dimer and FXII-dependent fibrinolytic activity (FXII-FA). HHcy was detected in 33% cases vs. 8.6% in control group ($p < 0.05$). The mean level of tHcy in patients in both periods was significantly higher than in control group (13.3 and 12.7 $\mu\text{mol/l}$ vs 9.9 $\mu\text{mol/l}$, $p < 0.05$). We found elevated levels of VWF, factor VIII, D-dimer, platelet hyperactivity and decreased FXII-FA in most of patients with ACS. Our results indicate that marked prothrombotic state, as well as disturbances in fibrinolytic and anticoagulant systems, is more prevalent in HHcy patients.

Key words: hyperhomocysteinemia, acute coronary syndrome, hemostasis.

Изучение ишемической болезни сердца (ИБС) имеет почти двухсотлетнюю историю, но до настоящего времени проблемам этиологии, патогенеза, лечения и методам профилактики данного заболевания отводится значительное место. ИБС является основной проблемой в клинике внутренних болезней, поскольку нарастает частота заболеваний ИБС в различных возрастных группах, высок процент потери трудоспособности и инвалидизации, а острые формы и осложнения заболевания

являются одной из ведущих причин смертности населения.

ИБС — патологическое состояние, развивающееся при нарушении соответствия между потребностью миокарда в кровоснабжении и его реальным осуществлением, что может явиться результатом различных причин [3].

В большинстве случаев процесс осуществляется по типу мультифакторного заболевания со сложным

взаимодействием между факторами окружающей среды и генетическими особенностями организма.

Наиболее опасным является развитие острой ишемии миокарда — состояния, требующего неотложной помощи с целью предотвращения критических для жизни осложнений. В его основе лежит разрыв (в 75% случаев) или эрозия атеросклеротической бляшки с локальным тромбообразованием, изменением реакции сосудистой стенки и резким нарушением кровоснабжения участка сердечной мышцы [14]. Соответствующие клинические симптомы (болевой синдром, аритмия, сердечная недостаточность, остановка сердца) принято определять как «острый коронарный синдром» (ОКС) — состояние, позволяющее подозревать острые формы ИБС (нестабильную стенокардию или инфаркт миокарда). Введение данного термина связано с необходимостью начала лечения до установления окончательного диагноза [1]. В настоящее время патогенез ОКС рассматривается как совокупность нескольких обязательных звеньев единого процесса, который имеет индивидуальные отклонения во времени и интенсивности. Так, обострение ИБС начинается с активизации системного и местного воспаления. Воспалительный процесс с вовлечением липидного ядра бляшки и ослаблением ее оболочки в результате разрушительного действия медиаторов воспаления составляет основу для разрыва бляшки и запуска тромбообразования.

В 1990-х годах к известным ранее факторам риска ИБС добавился еще один — гипергомоцистеинемия (ГГЦ). Гомоцистеин (ГЦ) — это серосодержащая аминокислота, являющаяся продуктом метаболического превращения метионина, одной из восьми незаменимых аминокислот организма. В плазме содержатся как окисленные, так и восстановленные формы гомоцистеина; тиоловая группа позволяет ему формировать дисульфидные связи с другими соединениями, в том числе с белками. Сумма всех форм определяется термином «общий гомоцистеин» [16]. В обычных условиях баланс образования и утилизации ГЦ сохраняется на определенном уровне, и концентрация аминокислоты в плазме крови здорового человека не превышает 13,5 мкмоль/л. В зависимости от концентрации гомоцистеина ГГЦ условно можно разделить на легкую (15–30 мкмоль/л), умеренную (30–70 мкмоль/л) и тяжелую (более 70 мкмоль/л) [2].

Было установлено, что повышение концентрации гомоцистеина (ГЦ) оказывает проатерогенное действие. Роль ГЦ как этиологического фактора атеросклероза была впервые рассмотрена McCully в 1969 г. [11]. В течение последующих лет количество исследований в этой области постепенно увеличивалось. Был накоплен фактический материал, свидетельствующий о том, что повышенный уровень ГЦ является значимым фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [9]. Согласно результатам крупных зарубежных проспектив-

ных исследований, среди которых — Framingham Heart Study, European Concerted Action Project, Hordaland Homocysteine Study, COMAC, Physicians Health Study, частота выявления ГГЦ в общей популяции составляет примерно 5% и достигает 13–47% среди пациентов с ИБС [12]. В то же время исследования, посвященные изучению динамики уровня ГЦ при ОКС, крайне малочисленны и охватывают небольшое число пациентов. Большинство исследователей на сегодняшний день считают ГГЦ независимым фактором риска возникновения сосудистой патологии [4, 6, 7, 8, 17, 19], хотя некоторые авторы высказывают предположение, что патогенные эффекты ГГЦ реализуются только при наличии других наследственных или приобретенных факторов риска тромботических состояний [10].

Тромбофилическое состояние при ГГЦ формируется вследствие токсичного влияния аминокислоты на эндотелиальные клетки, что приводит к высвобождению тромбогенных субстанций (в том числе к увеличению продукции тканевого фактора) и вазоактивных веществ, в результате чего происходит активация сосудисто-тромбоцитарного и плазменно-коагуляционного звеньев гемостаза [18]. Кроме того, ГГЦ способствует угнетению активности естественных антикоагулянтов (антитромбина, протеинов С и S). Избыток ГЦ способствует усилению образования дисульфидных производных белков и накоплению липопротеидов низкой и очень низкой плотности, с которыми вступает во взаимодействие ГЦ-тиолактон, активный метаболит ГЦ. Образуются конгломераты, которые быстро захватываются тканевыми макрофагами и включаются в пенистые клетки, участвующие в образовании атеросклеротической бляшки. Сульфгидрильная группа ГЦ-тиолактона встраивается в фосфосульфат фосфоаденозина, что в конечном итоге приводит к снижению образования сульфатированных гликозаминогликанов соединительнотканного матрикса сосудистой стенки и нарушению ее эластичности. ГЦ также является потенциальным митогеном для гладкомышечных клеток сосудов, т. е. способен усиливать процесс их пролиферации, что влечет за собой утолщение сосудистой стенки [13, 15].

Материалы и методы

Обследовано 45 пациентов (36 мужчин, 9 женщин в возрасте от 25 до 73 лет, средний возраст 54,5 года), поступивших в клинику кардиологии больницы им. Петра Великого с диагнозом «острый коронарный синдром». Диагноз устанавливался на основании клинических проявлений, данных электрокардиографии и определения маркеров повреждения миокарда (тропонин, КФК-МВ). Определение уровня ГЦ и комплексное исследование системы гемостаза у пациентов проводилось в острый период (в 1–3 сутки от момента развития ОКС) и на 14 сутки течения заболевания в лаборатории свертывания крови ФГУ РосНИИГТ. Уровень ГЦ опре-

Тромбозы в клинической практике: факторы риска, диагностика, терапия

делялся методом жидкостной хроматографии под высоким давлением. Показатели выше 13,5 мкмоль/л (90 процентиль в контрольной группе) расценивались как ГЦ. Исследование системы гемостаза помимо скрининговых тестов (протромбиновый тест, активированное парциальное тромбопластиновое время — АПТВ, тромбиновое время, концентрация фибриногена) включало определение активности факторов VIII и Виллебранда, анти-тромбина, Хагеман-зависимого лизиса эуглобулиновой фракции и морфофункциональную оценку внутрисосудистой активации тромбоцитов (ВАТ) по А. С. Шитиковой. Контрольную группу составили 58 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета Statistica 6.0.

Результаты

Частота встречаемости ГЦ у пациентов в острый период ОКС составила 33% против 8,6% в контрольной

группе ($p < 0,05$). При повторном определении через две недели повышенный уровень ГЦ наблюдался у 36%. Средний уровень ГЦ в группе пациентов как в острый период, так и на 14 сутки течения заболевания был достоверно выше, чем в контрольной группе (13,3 и 12,7 мкмоль/л vs. 9,9 мкмоль/л, соответственно, $p < 0,05$). Средний уровень ГЦ у пациентов с длительным анамнезом ИБС был достоверно выше, чем у тех, для кого эпизод ОКС явился дебютом заболевания (12,8 мкмоль/л vs. 10,6 мкмоль/л, $p < 0,05$).

Исследование системы гемостаза показало, что наиболее широко используемые в клинической практике скрининговые коагуляционные тесты (АПТВ, протромбиновый тест, тромбиновое время) полностью не отражают состояние свертывающей системы у данной категории пациентов. В то же время при расширенном исследовании у большинства пациентов в острый период было выявлено достоверное повышение показателей внутрисосудистой активации тромбоцитов, активности

Таблица 1

Некоторые показатели системы гемостаза у больных с ОКС ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые лица	Пациенты	
		В 1–3 сутки	На 14 сутки
1. Сумма АФТ, %	19,5 ± 0,7	28,2 ± 1,1*	30,1 ± 2,1*
2. Число тромбоцитов в агрегатах, %	6,7 ± 0,2	9,4 ± 0,78*	9,7 ± 0,68*
3. Активность фактора VIII, %	100,3 ± 4,1	120,5 ± 12,7*	167,5 ± 11,6**
4. Активность фактора Виллебранда, %	99,7 ± 2,67	189,9 ± 10,6*	170,2 ± 8,18*

* АФТ — сумма активных форм тромбоцитов;

* — достоверное различие с нормой, $p < 0,05$;

** — достоверное различие со средним показателем в 1–3 сутки, $p < 0,05$.

Таблица 2

Частота превышения пределов нормальных колебаний отдельных показателей гемостаза на 1–3 и 14 сутки

Показатели	Пределы нормальных колебаний	Частота встречаемости выявленных нарушений, %	
		В 1–3 сутки	На 14 сутки
1. Сумма АФТ, %	13,7–25,3	62	68
2. Число тромбоцитов в агрегатах, %	4,9–8,5	37	52
3. Активность фактора VIII, %	58–180	20	30
4. Активность фактора Виллебранда, %	54–153	73	74
5. Время Хагеман-зависимого эуглобулинового лизиса, мин.	4–10	71	60

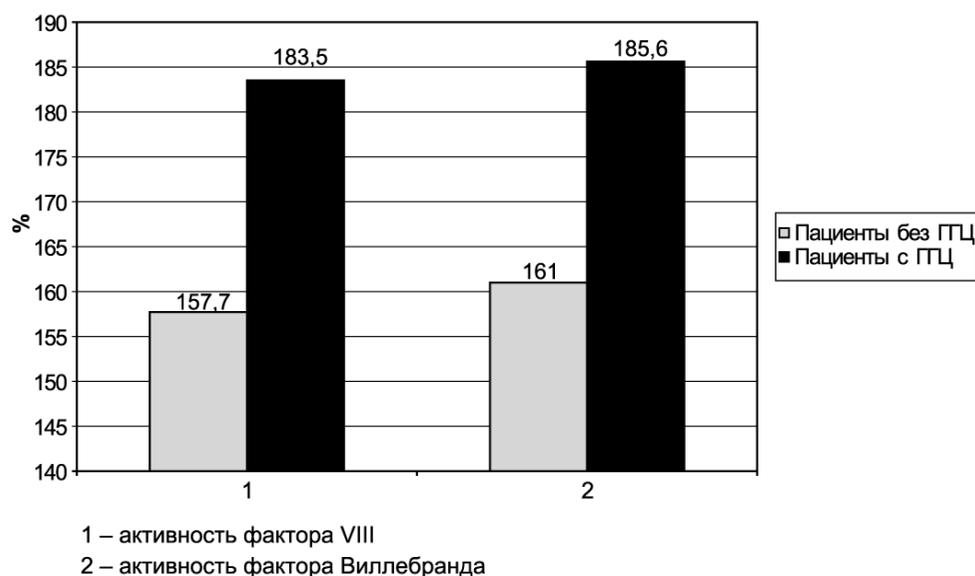


Рис. 1. Активность фактора VIII и фактора Виллебранда у пациентов с ГЦ и у пациентов с нормальным уровнем ГЦ

факторов VIII и Виллебранда и увеличение времени Хагеман-зависимого эуглобулинового лизиса по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Активация гемостаза сохранялась и на 14 сутки течения заболевания, что подтверждает анализ частоты встречаемости патологических показателей (табл. 2), причем значения некоторых показателей были даже выше. Так, средняя активность фактора VIII в острый период составила 120,5%, а на 14 сутки – 167,5% ($p < 0,05$), концентрация фибриногена – 3,9 и 4,3 г/л, соответственно ($p = 0,04$). Как в острый период, так и на 14 сутки течения ОКС было выявлено увеличение времени Хагеман-зависимого эуглобулинового лизиса (16,1 мин и 14,3 мин). В то же время отмечено уменьшение активности антитромбина при первичном обследовании и тенденция к ее нарастанию при повторном измерении (98,8% vs. 105,6%, $p = 0,06$).

Мы сравнили показатели гемостаза в остром периоде у пациентов с нормальным уровнем ГЦ и у пациентов с ГЦ. Были получены следующие результаты: средняя активность фактора VIII в группе пациентов с нормальным уровнем ГЦ составила 157,7%, в группе пациентов с ГЦ – 183,5% ($p = 0,7$), средний показатель активности фактора Виллебранда – 161% и 185,6%, соответственно, $p = 0,8$ (рис. 1). Недостоверность результатов может объясняться тем, что исходные данные значительно различались между собой. Повышенный уровень Д-димера (≥ 1000 нг/мл) у пациентов с ГЦ отмечался в 56% случаев, в то время как в группе пациентов с нормальным уровнем ГЦ – только в 7% случаев.

Обсуждение

Средний уровень ГЦ в группе пациентов в острый период и на 14 сутки течения был достоверно выше, чем в контрольной группе (13,3 и 12,7 мкмоль/л vs. 9,9 мкмоль/л, соответственно, $p < 0,05$), что согласуется с результатами, полученными некоторыми зарубежными авторами [5]. Однако уровень ГЦ у наблюдаемых пациентов на 1–3 и на 14 сутки не различался достоверно (13,3 vs. 12,7 мкмоль/л, $p = 0,8$). О влиянии ГЦ на тяжесть и распространенность атеросклеротического поражения коронарных артерий может свидетельствовать достоверно более высокий уровень ГЦ у лиц, страдающих ИБС в течение длительного времени, по сравнению с теми, кто не имел подобного анамнеза (12,8 мкмоль/л vs. 10,6 мкмоль/л, $p < 0,05$).

Исследование системы гемостаза показало, что для пациентов с ОКС характерно состояние гиперкоагуляции, которое сохранялось на протяжении всего срока наблюдения. Так, данные, полученные при исследовании ВАТ, свидетельствуют о том, что тромбоцитарное звено гемостаза как в острый период, так и в сроки до 14 дней от острого эпизода находится в состоянии активации, несмотря на проводимую терапию. Повышение активности фактора VIII и фактора Виллебранда в острый период свидетельствует о напряжении плазменного звена гемостаза. Более того, активность фактора VIII и концентрация фибриногена были достоверно выше при повторном определении (120,5% vs. 167,5%, $p < 0,05$ и 3,9 vs. 4,3 г/л, $p = 0,04$, соответственно). Кроме того, для острого периода заболевания характерно снижение ес-

тестового антикоагулянтного потенциала, что подтверждается уменьшением активности антитромбина. Выявленное увеличение времени Хагеман-зависимого эглобулинового лизиса свидетельствует о выраженных нарушениях в системе фибринолиза. На 14 сутки от острого эпизода в состоянии антикоагулянтной и фибринолитической систем отмечается положительная динамика (нарастает активность антитромбина, уменьшается время Хагеман-зависимого эглобулинового лизиса).

Сравнение показателей гемостаза у пациентов с ГЦ и у пациентов с нормальным уровнем ГЦ выявило

более выраженную активацию процесса коагуляции у пациентов с ГЦ, что подтверждается увеличением активности факторов VIII и Виллебранда и частоты встречаемости повышенного уровня Д-димера в данной подгруппе.

Таким образом, для пациентов с острым коронарным синдромом характерно повышение гемостатического потенциала крови, степень выраженности которого зависит от уровня гомоцистеина. Дальнейшее углубленное изучение роли гомоцистеина в этиологии и патогенезе ОКС открывает новые перспективы в профилактике и лечении данного заболевания.

Литература

1. Приложение к журналу «Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости». Ишемическая болезнь сердца. — № 3, 2004.
2. Шмелева В. М. Значение гомоцистеина в патогенезе тромбоза и атеросклероза. — СПбГМУ им. И. П. Павлова. Ученые Записки. Т. 11, № 3, 2004.
3. Шулуто Б. И., Макаренко С. В. Ишемическая болезнь сердца. — СПб.: «Элби СПб», 2005. — 160 с.
4. Albert C. M., Ma J., Rifai N., Stampfer M. J., Ridker P. M. Prospective Study of C-Reactive Protein, Homocysteine, and Plasma Lipid Levels as Predictors of Sudden Cardiac Death. *Circulation*, 2002; 105: 2595–2599.
5. Al-Obaidi M. K., Philippou H., Stubbs P. J. et al. Relationships between homocysteine, factor VIIa, and thrombin generation in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2000; 101: 372–377.
6. Al-Obaidi M. K., Stubbs P. J., Amersey R., Noble M. I. M. Acute and convalescent changes in plasma homocysteine concentrations in acute coronary syndromes. *Heart*. 2001; 85: 380–384.
7. Anderson J. L., Muhlestein J. B., Horne B. D. et al. Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation*. 2000; 102: 1227–1232.
8. Boushey C. J., Beresford S. A. A., Omenn G. S., Motulsky A. G. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*. 1995; 274: 1049–1057.
9. Clarke R., Daly L., Robinson K., Naughten E., Cahalane S., Fowler B. & Graham I. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N. Engl. J. Med.* 1991, 324, 1149–1155.
10. Hackam D. G., Peterson J. C., Spence J. D. What level of plasma homocyst(e)ine should be treated? Effects of vitamin therapy on progression of carotid atherosclerosis in patients with homocyst(e)ine levels above and below 14 $\mu\text{mol/L}$. *Am. J. Hypertens.* 2000; 13: 105–110.
11. Hankey G. J., Eikelboom J. W. Homocysteine and vascular disease // *Lancet*. — 1999.— Vol. 354.— P. 407–413.
12. Kazemi M. B. S., Eshraghian K., Omrani G. R., Lankarani K. B., and Hosseini E. Homocysteine Level and Coronary Artery Disease. *Angiology*, January 1, 2006; 57(1): 9–14.
13. Kennedy R. H., Owings R., Shekhawat N., Joseph J. Acute negative inotropic effects of homocysteine are mediated via the endothelium // *Am. J. Physiol.*, 2004, 287: H812–H817.
14. Knekt P., Reunanen A., Alfthan G., Heliövaara M., Rissanen H., Marniemi J., Aromaa A. Hyperhomocysteinemia: A Risk Factor or a Consequence of Coronary Heart Disease? *Arch. Intern. Med.* 2001; 161: 1589–1594.
15. Medina M. A., Urdiales J. L. and Amores-Sanchez M. I. Roles of homocysteine in cell metabolism: Old and new functions. *FEBS J.*, July 15, 2001; 268(14): 3871–3882.
16. Mudd S. H., Finkelstein J. D., Refsum H., Ueland P. M., Malinow M. R., Lentz S. R., Jacobsen D. W., Brattstrom L., Wilcken B., Wilcken D. E. L., Blom H. J., Stabler S. P., Allen R. H., Selhub J. and Rosenberg I. H. Homocysteine and Its Disulfide Derivatives: A Suggested Consensus Terminology. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, July 1, 2000; 20(7): 1704–1706.
17. Stubbs P. J., Al-Obaidi M. K., Conroy R. M., Collinson P. O., Graham I. M., Noble M. I. M. Effect of plasma homocysteine concentration on early and late events in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*, 2000; 102: 605–610.
18. Thambyrajah J., Townend J. N. Homocysteine and atherothrombosis-mechanisms for injury. *Eur. Heart. J.* 2000; 21: 967–74.
19. Wald D. S., Law M., Morris J. K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ*, 2002; 325: 1202–1202.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АСПИРИНУ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

А. В. ВАВИЛОВА, В. В. ДОРОФЕЙКОВ, В. И. ИВАНОВ, Э. В. КУЛЕШОВА
ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова,
Санкт-Петербург

Резюме. Эффективность аспирина в лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний хорошо известна. Однако от 5 до 48% больных, по данным разных авторов, демонстрируют клинические и лабораторные признаки аспиринорезистентности. С целью оценки взаимосвязи чувствительности к ацетилсалициловой кислоте и течения ИБС (по данным ретроспективного анализа) было обследовано 26 пациентов, получающих аспирин в качестве вторичной профилактики по поводу хронических форм ИБС, и 23 здоровых донора. Для лабораторной оценки чувствительности к ацетилсалициловой кислоте был использован метод АДФ-индуцированной импедансной агрегатометрии в цельной крови, показавший хорошие возможности выявления лиц с нормальной и сниженной чувствительностью к аспирину. Пониженная чувствительность к ацетилсалициловой кислоте и ее полное отсутствие у больных ИБС отмечено достоверно чаще, чем в группе здоровых лиц.

Ключевые слова: импедансная агрегатометрия, чувствительность к аспирину.

ASPIRIN SENSITIVITY IN PATIENTS WITH CHRONIC ISCHEMIC HEART DISEASE

A. V. VAVILOVA, V. V. DOROFYEV, V. I. IVANOV, E. V. KULESHOVA
Federal State Institution «Federal V. A. Almazov Center of Heart, Blood and Endocrinology»,
Saint-Petersburg

Summary. Efficacy of aspirin in treatment and prevention of cardiovascular diseases is well-known. However, according to the data received by different scientists, from 5 to 48% patients demonstrate clinical and laboratory signs of aspirin resistance. The aim of the study was to evaluate the relation between sensitivity to acetylsalicylic acid and course of ischemic heart disease (basing on retrospective analysis). The trial included 26 patients with ischemic heart disease receiving aspirin as a drug for secondary prevention and 23 healthy donors. Laboratory evaluation of sensitivity to acetylsalicylic acid was performed by means of ADP-induced impedance aggregatometry of native blood. This method was shown to be effective for evaluation of individual sensitivity to aspirin. In patients with ischemic heart disease, decreased sensitivity to acetylsalicylic acid or total absence of this sensitivity was revealed significantly more common than in healthy persons.

Key words: impedance aggregatometry, sensitivity to aspirin.

Одним из основных методов профилактики сердечно-сосудистых событий в настоящее время является использование антиагрегантов. Наиболее широко используемым препаратом является аспирин — ацетилсалициловая кислота (АСК), который известен уже более 100 лет. Аспирин необратимо ингибирует циклооксигеназу-1 (ЦОГ-1) тромбоцитов, вследствие чего уменьшается синтез циклических эндоперекисей — индукторов агрегации тромбоцитов: простагландинов G_2 и H_2 и тромбоксана A_2 из арахидоновой кислоты. Аспирин блокирует реакцию высвобождения содержимого тромбоцитарных гранул, индуцированную АДФ и норадреналином, и не влияет на адгезию тромбоцитов [1, 2].

Роль аспирина в снижении риска инсульта, инфаркта и сердечно-сосудистой смерти убедительно продемонстрирована в многочисленных рандомизированных клинических исследованиях. По данным мета-анализа

287 исследований, посвященных вторичной профилактике у больных высокого сердечно-сосудистого риска, длительная антиагрегантная терапия аспирином снижает риск развития больших сосудистых эпизодов на 25% [4]. Это явилось основанием рекомендовать аспирин в качестве препарата первого ряда для вторичной профилактики у больных ИБС.

Эффективность аспирина в лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний была установлена для широкого диапазона доз от 30–50 мг до 1500 мг/сутки, однако и в умеренных дозах (75–100 мг), которые применяются наиболее часто, аспирин при достаточной блокаде синтеза тромбоксана A_2 минимально угнетает образование простаглицина и простагландинов слизистой оболочки желудка [5].

Вместе с тем, несмотря на обнадеживающие результаты клинических исследований, было обнаружено, что

не у всех больных удается достичь адекватного подавления агрегации тромбоцитов и предупредить повторные тромботические эпизоды даже при продолжительном и регулярном приеме препарата в стандартных терапевтических дозах. Так, Mehta и Yusuf [12] при проспективном наблюдении в течение 6 месяцев 8000 больных, госпитализированных по поводу ОКС, обнаружили, что у 6% пациентов в последующем возникали сосудистые события.

Неспособность АСК вызвать подавление функции тромбоцитов получила название резистентности к аспирину. Распространенность этого явления по данным разных авторов колеблется в широких пределах — от 5 до 48% [10, 8].

В качестве синонимов понятия аспиринорезистентность используются также такие термины, как вариабельность ответа на терапию, неудача лечения [14].

Причины устойчивости к аспирину многообразны. Среди них рассматриваются полиморфизм и/или мутация гена ЦОГ-1, возможность образования тромбоксана A_2 в макрофагах и эндотелиальных клетках посредством ЦОГ-2, полиморфизм P_{1b}/P_{1a} рецепторов тромбоцитов, активация тромбоцитов через другие пути, которые не блокируются аспирином [13]. Существующие методы лабораторной диагностики аспиринорезистентности, основанные на определении времени кровотечения, образования «тромбоцитарной пробки», адгезии и агрегации тромбоцитов, изменений на поверхности тромбоцита, связанных с его активацией и др., достаточно трудоемки, не стандартизованы и не получили широкого распространения [8, 10, 14].

Кроме того, возможные причины снижения чувствительности к аспирину включают низкую приверженность к лечению, недостижение оптимальной дозы препарата, наличие сопутствующих нарушений — гиперлипидемия, сахарный диабет, прием нестероидных противовоспалительных средств, курение и др. [15, 9, 7].

Вопрос о корреляции между особенностями течения сердечно-сосудистых заболеваний, вероятностью повторных тромботических осложнений и лабораторными показателями до настоящего времени не имеет однозначного ответа.

Целью настоящего исследования была оценка взаимосвязи чувствительности к АСК и течения ИБС (по данным ретроспективного анализа) у пациентов, получающих аспирин в качестве вторичной профилактики.

Материал и методы

Обследовано 26 больных, страдающих различными хроническими формами ИБС (16 мужчин и 10 женщин). Средний возраст составил 58 лет (41–71 год). У 23 больных была стабильная стенокардия напряжения II–III функционального класса, у двух — безболевого ишемия миокарда, у одного — вазоспастическая стенокардия.

Диагноз ИБС у всех пациентов подтвержден с помощью нагрузочных тестов и коронарографии, выполненной в кардиохирургическом отделении. Ранее 13 пациентов перенесли инфаркт миокарда с зубцом Q, 7 — инфаркт без зубца Q, эпизоды дестабилизации стенокардии в прошлом отмечались у 17 больных, острое нарушение мозгового кровообращения — у 3.

Все пациенты имели факторы сердечно-сосудистого риска: артериальную гипертензию — 24, избыточную массу тела — 22 (12 мужчин и 10 женщин), отягощенную наследственность — 22, курили 16 человек.

В качестве стандартной вторичной профилактики все больные получали симвастатин в дозе 10–20 мг в сутки и аспирин в дозе 50–125 мг (средняя доза 100 мг) в сроки от 2 мес. до 19 лет. 18 человек (69%) принимали аспирин регулярно, 8 (31%) — периодически, в виде курсов различной длительности. Длительность непрерывной терапии аспирином к моменту обследования составляла не менее 7 дней.

У всех пациентов проводили типирование липидов, определяли уровень С-реактивного белка ультрачувствительным методом, фибриногена, глюкозы, мочевой кислоты. Указанные исследования выполнялись на автоматическом анализаторе «Хитачи-902» (Япония) с использованием реагентов и контрольных материалов фирмы «Рош диагностика» (Швейцария).

Группу сравнения составили 23 здоровых донора, сопоставимых по возрасту и полу и не принимавших аспирин.

Ингибирующую способность АСК определяли *ex vivo* в цельной крови по оригинальной методике. Осуществляли тестирование агрегационной активности тромбоцитов в цельной крови до и после инкубирования крови с АСК. В качестве индуктора агрегации использовали АДФ в конечной концентрации 5,0 мкмоль/л. По полученным результатам рассчитывали степень подавления амплитуды индуцированной агрегации в процентах. Дозу АСК подбирали по контрольной группе ($n = 23$) здоровых доноров из условия ингибирования агрегации примерно в 2 раза. В этом случае сохраняется возможность выявлять сдвиги в обоих направлениях в ответ на множественные стимулы, с которыми сталкиваются тромбоциты во время активации *in vivo*. Исследования проводили на отечественном импедансном агрегометре АИ-300 (Санкт-Петербург) с соблюдением всех стандартных условий, необходимых для оптимальной реализации тромбоцитами их функций [3]. Чувствительность к АСК оценивалась по следующим критериям: подавление амплитуды индуцированной агрегации < 40% — пониженная чувствительность, от 40 до 60% — нормальная и > 60% — повышенная.

Результаты

По данным ретроспективного анализа было установлено, что имевшие место в прошлом сердечно-сосудистые

Результаты исследования липидного спектра и СРБ у пациентов с различной чувствительностью к аспирину ($M \pm \sigma$)

	Нормальная чувствительность (n = 13)	Сниженная чувствительность (n = 8)	Отсутствие чувствительности (n = 5)
ХС общий (ммоль/л)	4,42 ± 0,82	4,55 ± 0,52	4,55 ± 0,91
ХС ЛПНП (ммоль/л)	2,62 ± 0,75	2,94 ± 0,39	2,61 ± 0,58
ХС ЛПВП (ммоль/л)	1,14 ± 0,28	1,26 ± 0,52	1,25 ± 0,34
ТГ (ммоль/л)	2,45 ± 1,04	1,80 ± 0,56	2,59 ± 0,99
СРБ (мг/л)	8,38 ± 12,48	17,07 ± 23,75 (от 2,55 до 72,5)	5,12 ± 1,29

события, в том числе и повторные, на фоне приема аспирина развились у 14 из 26 больных (54%): инфаркт с зубцом Q — у 8, инфаркт без зубца Q — у 4, дестабилизация стенокардии — в 13 случаях, ОНМК — у 2 человек.

Среди лиц, перенесших сердечно-сосудистые события на фоне терапии аспирином, препарат принимали регулярно 10 человек из 14 (71%). Нормальная чувствительность к АСК выявлена у 8 больных (58%), сниженная — у 3 (21%), 3 больных (21%) были не чувствительны к аспирину.

В группе пациентов без повторных сердечно-сосудистых эпизодов (12 человек) 8 больных принимали препарат регулярно (66%). Нормальная чувствительность к аспирину наблюдалась у 5 больных (42%), сниженная — у такого же числа (5 или 42%), чувствительность к аспирину отсутствовала у двух больных (16%).

Различия в реакции на аспирин наблюдались и среди лиц контрольной группы. У 7 (30%) доноров ингибирующая активность аспирина была снижена.

В связи с тем, что гиперхолестеринемия и воспаление ассоциируются с повышением активности тромбоцитов и могут снижать чувствительность к аспирину, у всех больных определяли липидный спектр и концентрацию СРБ (см. табл. 1). Как следует из приведенных данных, уровень общего холестерина (ХС), ХС липопротеидов низкой (ХС ЛПНП) и высокой плотности (ХС ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) у больных с различной чувствительностью к аспирину не различался.

Из 16 больных, которые курили раньше, но впоследствии отказались от курения, у 8 (50%) была нормальная чувствительность к аспирину, у 5 (31%) — сниженная, 3 (18,8%) были не чувствительны к АСК. Во всех исследуемых группах отмечалось повышение уровня СРБ, особенно у пациентов со сниженной чувствительностью к АСК, однако для окончательного суждения о риске развития сердечно-сосудистых осложнений у этих больных требуется дальнейшее наблюдение.

Обсуждение

Аспирин занимает первое место среди препаратов, используемых у больных ИБС для профилактики атеротромботических осложнений и улучшения прогноза, однако у ряда больных, несмотря на продолжающуюся терапию аспирином, сохраняется повышенная агрегационная активность тромбоцитов и развиваются острые коронарные эпизоды, дестабилизация течения стенокардии или нарушение мозгового кровообращения.

Причины осложненного течения ИБС многообразны, но в последние годы при обсуждении неудач вторичной профилактики все шире обсуждается проблема резистентности к антиагрегантной терапии.

Судить об истинной распространенности резистентности к аспирину сложно, так как ее частота различается в зависимости от методов, которые используются для оценки агрегационной активности тромбоцитов и их ответа на воздействие аспирина, вида и концентрации индукторов агрегации, дозы аспирина. Так, при использовании методов, позволяющих прямо оценивать способность АСК блокировать ЦОГ-1, резистентность к аспирину выявлялась лишь у 1–5% больных. Если же применялись методики, косвенно оценивающие блокаду ЦОГ-1, не чувствительными к аспирину оказывались до 30% больных [11]. При исследовании агрегации тромбоцитов с АДФ в концентрации 10 мкмоль/л и арахидоновой кислоты в концентрации 0,5 мг/мл устойчивость к аспирину определялась примерно у 5% [10].

Такие существенные противоречия и расхождения в результатах оценки аспиринорезистентности могут быть связаны с несколькими причинами:

1. Отсутствием единого понятия «аспиринорезистентности»;
2. Использованием для изучения аспиринорезистентности богатой тромбоцитарной плазмы, что является не самой удачной моделью, так как удаленные из привычного окружения тромбоциты могут неадекватно

реагировать на добавление индукторов агрегации. В литературе нет единого мнения о выборе индукторов активации тромбоцитов, т. к. и АДФ, и коллаген, и арахидоновая кислота в кровеносном русле не являются истинной причиной агрегации тромбоцитов.

Перечисленные обстоятельства, а также трудоемкость изучения агрегации и необходимость высокой квалификации специалистов клинической лабораторной диагностики приводят к малой распространенности метода определения агрегационной активности тромбоцитов в оценке аспиринорезистентности.

По нашему мнению, метод определения АДФ-индуцированной агрегации в цельной крови является более перспективным и лишенным многих недостатков. Так, изучение агрегации на многоканальном импедансном агрегометре не требует специальной пробоподготовки образца (центрифугирование, отбор плазмы и т. д.), время определения составляет не более 10 минут.

Проведенное исследование показало, что снижение чувствительности к аспирину (подавление агрегации тромбоцитов при инкубации с АСК менее чем на 40%) встречается у больных чаще, чем в контрольной группе. Более того, у 38% пациентов чувствительность к АСК отсутствовала. Отсутствие изменений агрегации после инкубации с АСК у здоровых доноров не наблюдалось, хотя отличия при сравнении групп были недостоверными.

Неожиданной оказалась невысокая приверженность больных к терапии АСК — почти треть пациентов принимала аспирин нерегулярно. Вместе с тем количество сердечно-сосудистых событий, развившихся в прошлом на фоне терапии аспирина, не было связано с регулярностью приема препарата.

Bhatt и Topoll (2003) выделяют два вида резистентности к аспирину: клиническую, которая характеризуется развитием повторных тромботических осложнений у больных, получающих аспирин в стандартных терапевтических дозах, и биохимическую — невозможность подавления продукции тромбоксана A_2 и адекватного ингибирования тромбоцитов [6].

В литературе имеются данные о том, что пациенты с выявленной биохимической аспиринорезистентностью имеют более высокий риск повторного инфаркта миокарда, инсульта и внезапной сосудистой смерти [10].

В настоящем исследовании доля больных с наличием и отсутствием атеротромботических осложнений в прошлом, несмотря на прием АСК, не различалась среди лиц с нормальной и сниженной чувствительностью к аспирину. Не обнаружилось связи между особенностями течения ИБС и характером ответа тромбоцитов на инкубацию с аспирином *in vitro*. Наблюдалась тенденция к повышению уровня СРБ у лиц со сниженной чувствительностью к АСК, однако с учетом большого разброса величин и небольшого количества наблюдений говорить

о какой-либо закономерности не представляется возможным.

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что при обследовании больных, получающих аспирин в целях вторичной профилактики, могут быть выявлены лица с различной чувствительностью к АСК, в том числе и полным отсутствием чувствительности у некоторых пациентов. Однако выявить связи между наличием сердечно-сосудистых событий в прошлом и характером ответа на аспирин *in vitro* среди обследованных лиц не удалось. Весьма вероятно, что осложненное течение ИБС связано не только с изменениями чувствительности к аспирину, но и с иными патогенетическими механизмами. Проведение в дальнейшем более масштабных комплексных проспективных наблюдений за течением ИБС, с учетом длительности применения АСК, позволяет получить более точные данные о распространенности резистентности к аспирину и ее клиническом значении.

Выводы

Метод импедансной агрегатометрии в цельной крови с применением индуктора агрегации аденозиндифосфата (АДФ) среди больных ИБС и здоровых доноров позволяет выявить лица с нормальной и сниженной чувствительностью к АСК. Пониженная чувствительность к ацетилсалициловой кислоте и ее полное отсутствие у больных ИБС отмечается достоверно чаще, чем в группе здоровых лиц.

В настоящей серии исследований доля больных с наличием и отсутствием атеротромботических осложнений в прошлом, несмотря на регулярность приема АСК, не различалась среди лиц с нормальной и сниженной чувствительностью к аспирину.

Не обнаружено связи между уровнем общего холестерина и его фракций, статусом курения и чувствительностью к аспирину.

Литература

1. Вавилова Т. В. Гемостазиология в клинической практике. — СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2005. — 96 с.
2. Шитикова А. С. Механизм действия ацетилсалициловой кислоты на процессы гемостаза // Мед. акад. журн. — 2003. — Т. 3, № 1. — С. 23–35.
3. Преображенский Д. В., Сидоренко В. А., Малышева Н. В., Цурко В. В. Место аспирина в первичной профилактике ишемической болезни сердца // Кардиология. — 2002. — Т. 42, № 4. — С. 91–95.
4. Иванов В. И. «Исследование функциональной активности тромбоцитов в цельной крови». Гемостаз. Учебное пособие. СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, Российский НИИ гематологии и трансфузиологии. — СПб., 1999. — С. 53–60.
5. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Prevention of death, myocardial infarction and stroke by antiplatelet therapy in high-risk patients. *BMJ*, 2002; 324: 71–86.

6. Awrtry E. H., Loscalzo J. Aspirin. Rev. Circulation, 2000; 101: 1206–1218.
7. Bhatt D. L., Topoll E. J. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. Nature Rev. Drug. Discovery, 2003; 2: 15–28.
8. Mirkhel A., Peyster E., Sundeen J. et al. Frequency of aspirin resistance in a community hospital. Am. J. Cardiol., 2006; 98(5): 577–9.
9. Eikelboom J. W., Hirsh J., Weitz J. I. et al. Aspirinresistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. Circulation, 2002; 105: 1650–5.
10. Friend M., Vucenic I., Miller M. Platelet responsiveness to aspirin in patients with hyperlipidemia. BMJ, 2003; 326: 82–83.
11. Gum P. A., Kottke-Marchant K., Welsh P. A. et al. A prospective, blinded determination of the nature history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. J. Am. Coll. Cardiol., 2003; 41: 961–5.
12. Tantry U. S., Bliden K. P., Gurbel P. A. Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation. J. Am. Coll. Cardiol., 2005. 1; 46(9): 1705–9.
13. Mehta S. R., Yusuf S. Short- and long-term oral antiplatelet therapy in acute coronary syndromes and percutaneous coronary intervention. J. Am. Coll. Cardiol., 2003; 41: 79–88.
14. Michelson A. D., Cattaneo M., Eikelboom J. W. et al. Aspirin Resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. J. Thromb. Haemost., 2005; 3: 1309–11.
15. Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. J. Thromb. Haemost., 2003; 1: 1710–3.
16. Tatijian J., Salamon A., Jager R. et al. The rate of acetylsalicylic acid non-responders among patients hospitalized for acute coronary disease, previously undergoing secondary salicylic acid prophylaxis. Orv. Hetil., 1999; 140: 2339–43.

13 сентябрь 2007 года

Россия, Санкт-Петербург

**НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА**

**ПОЛНОМОЧНОЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА
ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ
В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РФ
ГОУ ВПО «СПБГМУ ИМ. АКАД. И. П. ПАВЛОВА РОСЗДРАВА»
РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

**Национальный проект «Здоровье»: лабораторный скрининг при формировании
«Паспорта здоровья»**

Основные темы конференции:

1. Критерии выбора лабораторных технологий оценки состояния здоровья индивидуума и особенностей саногенетических систем. Скрининговые тесты и алгоритмы диагностики.
 - Пренатальная диагностика, наследственная патология.
 - Атеросклероз, метаболический синдром, сахарный диабет, гипертоническая болезнь.
 - Заболевания желудочно-кишечного тракта.
 - Заболевания эндокринной системы.
 - Экологический климат и заболевания.
2. Методы медицинской информатики для многомерного анализа состояния органов и систем индивидуума и оценки влияния образа жизни.
3. Эффективность использования материально-технического потенциала лабораторной службы первичного звена здравоохранения.
4. Медицинский менеджмент в обеспечении преемственности лабораторной диагностики в учреждениях разного уровня медицинской помощи и различных форм собственности.

РОЛЬ АННЕКСИНА А5 И АНТИТЕЛ К АННЕКСИНУ А5 В РАЗВИТИИ ТРОМБОФИЛИИ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Л. В. ВАСИНА

ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Росздрава,
Центральная медико-санитарная часть №122 МЗ, РФ

Резюме. Целью данной работы было исследование содержания аннексина А5 и уровня антител к нему в крови больных острым коронарным синдромом. У всех больных был повышен уровень аннексина А5. Антитела к А5 были выявлены в 55,4% случаев. При этом имелась прямая корреляция содержания аннексина А5 и уровня высокопозитивных антител с тяжестью заболевания и с факторами, повреждающими эндотелий (антителами к окисленным липопротеинам низкой плотности и липопротеином (а)), что свидетельствует о возможной роли эндотелия как источника аннексина А5. Таким образом, повышение в крови больных острым коронарным синдромом аннексина А5 и антител к А5 и выявленная прямая корреляция между их содержанием и факторами, повреждающими эндотелий, позволяет использовать данные показатели для оценки сосудистой тромбофилии при данной патологии.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, аннексин А5, антитела к А5, тромбофилия.

ANNEXIN A5 AND ANTIBODIES TO ANNEXIN A5 IN DEVELOPMENT OF THROMBOPHYLIA IN ACUTE CORONARY SYNDROME

L. V. VASINA

State Educational Institution for Higher Professional Education «Saint-Petersburg I. P. Pavlov State Medical University, Federal Agency for Health Care and Social Development»,
Central Medical Service Department N 122, Ministry for Health Care of Russian Federation

Summary. The aim of study was to evaluate the level of annexin 5 and antibodies to annexin 5 in patients with acute coronary syndrome. In all patients the level of annexin 5 was increased, antibodies revealed in 55,4% of cases. Direct correlation between level of annexin 5 and high positive antibodies with severity of the disease and factors, causing the endothelial injury (antibodies to lipoprotein (a) and acidified low density lipoproteins). This may be related to possible role of endothelium as a source for annexin 5. The increase of annexin 5 and antibodies to annexin 5 and their correlation with endothelial injury gives possibility to use these markers for evaluation of vascular thrombophilia in acute coronary syndrome.

Key words: acute coronary syndrome, annexin 5, antibodies to annexin 5, thrombophilia.

В последние годы большое внимание уделяется изучению биологической активности белков, относящихся к семейству аннексинов. В механизме действия аннексина А5, как и других аннексинов, большое значение имеет их свойство связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами, в том числе с фосфатидилсеринем (ФС), экспозиция которого на клеточной мембране является одним из ранних признаков апоптоза [11, 12].

Аннексин А5, как и другие аннексины, не выделяется из нормальных клеток; источником внеклеточного аннексина А5 являются апоптотические и разрушенные клетки [16, 17].

Повышенный уровень антител к аннексину А5 в плазме обнаруживают при многих состояниях, связанных с антифосфолипидным синдромом (АФС) и апоптозом, поскольку комплексы антифосфолипидных антител с соответствующими протеинами способны связываться с отрицательно заряженными фосфолипи-

дами клеточных мембран, создавая при этом конкурентные отношения с аннексином А5 [2, 6].

Согласно современным представлениям, в основе острого коронарного синдрома чаще лежит нарушение целостности атеросклеротической бляшки в результате апоптоза эндотелия и тромбоз коронарной артерии [4, 15].

Данные об образовании аннексина А5 и антител к нему у больных ИБС малочисленны и противоречивы. Учитывая роль АФА в патогенезе тромбофилии, представляет интерес изучение взаимосвязи растворимой формы аннексина А5 и антител к аннексину А5 с факторами, повреждающими эндотелий при остром коронарном синдроме.

Материалы и методы

Для решения поставленных задач было обследовано 83 человека (21 женщина и 62 мужчины в возрасте от 49 до 72 лет), поступивших в стационар по поводу различ-

ных форм ишемической болезни сердца. Все обследованные были разделены на 3 группы (табл. 1): в 1-ю группу вошли 67 пациентов, поступивших по поводу нестабильной стенокардии, во 2-ую — 16 больных с острым инфарктом миокарда (из них у 6 был острый инфаркт миокарда с зубцом Q, у 10 на ЭКГ изменения отсутствовали или регистрировались изменения в виде депрессии сегмента ST). В 3-ю — (контрольную) группу вошли 14 практически здоровых мужчин. Для исключения ИБС у всех мужчин, вошедших в контрольную группу, были выполнены регистрация ЭКГ и эхокардиография. Диагноз нестабильной стенокардии и острого инфаркта миокарда основывался на результатах клинического обследования, изменениях ЭКГ, лабораторных показателях и данных эхокардиографии. На момент обследования препараты, снижающие уровень липидов, пациенты не получали.

Уровень общего холестерина, триглицеридов и холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) у больных измеряли на биохимическом анализаторе SPECTRUM, США. Содержание аполипопротеинов А-1, В и липопротеина (а) определяли с помощью иммунологического турбидиметрического метода. Содержание растворимого маркера апоптоза аннексина А5, а также антител к аннексину А5 в венозной крови изучали иммуноферментным методом, используя соответствующие тест-системы (Bender MedSystems, Австрия; Orgentec, Германия).

Для оценки количественных показателей, полученных в результате исследований, определялись стандартные статистические характеристики: среднее значение M и дисперсия σ . Результаты исследования обработаны методом вариационной статистики с оценкой достоверности по критерию Стьюдента (t). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (P) принимался равным 0,05.

Результаты исследования

Содержание липидов, аполипопротеинов А-1, В, липопротеина (а) и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности представлено в табл. 1.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, у больных острым коронарным синдромом отмечались определенные нарушения липидного обмена, степень выраженности которых увеличивалась по мере нарастания тяжести заболевания. Обращало на себя внимание повышение в крови больных общего холестерина, триглицеридов, аполипопротеина В, липопротеина (а) и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Следует отметить достоверное по сравнению с контрольной группой снижение в крови больных острым коронарным синдромом содержания холестерина ЛПВП (α -холестерина) ($p < 0,05$). Проведенное обследование показало, что уро-

вень аполипопротеина А-1 у больных острым коронарным синдромом практически не отличался от контрольной группы. При сравнении показателей, полученных в группах больных нестабильной стенокардией и острым инфарктом миокарда, статистически достоверные различия установлены в отношении содержания триглицеридов ($p < 0,05$) и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности ($p < 0,05$).

По нашим данным, при изучении содержания антител к окисленным липопротеинам низкой плотности (anti-oxLDL) было установлено, что в группе больных острым коронарным синдромом частота выявления антител составила 45,7% (повышенный уровень отмечался у 9 пациентов с острым инфарктом миокарда (56,2%) и у 29 — с нестабильной стенокардией (43,2%)). В зависимости от уровня позитивности антител к окисленным липопротеинам низкой плотности (anti-oxLDL) больные распределялись следующим образом: низко-позитивный уровень антител отмечался у 9 пациентов (23,6%) и составил $5,2 \pm 1,09$ Ед/мл, средне-позитивный уровень — у 8 пациентов (21%), составил $16,54 \pm 2,92$ Ед/мл, высоко-позитивный — у 21 больного (55,2%), составил соответственно $34,71 \pm 5,22$ Ед/мл.

Таким образом, как видно из полученных данных, у больных острым коронарным синдромом выявлены характерные для атеросклероза изменения липидограммы, наиболее выраженные при остром инфаркте миокарда.

Накоплено большое число фактов, свидетельствующих о связи между аутоиммунной патологией и дислипидемией [1, 13]. Повреждение сосудистой стенки модифицированными липопротеинами низкой плотности приводит к экспозиции анионных фосфолипидов на поверхности эндотелия. Именно в этих условиях, уже после начальной стимуляции эндотелиальных клеток, антифосфолипидные антитела (АФА) могут содействовать начавшимся реакциям активации, являясь дополнительным тромботическим стимулом. Антикоагулянтные свойства аннексина А5 определяются способностью связываться в присутствии ионов Ca^{++} с отрицательно заряженными мембранными фосфолипидами, предотвращая развитие на поверхности апоптотических клеток тромботических и воспалительных реакций.

Мы исследовали содержание аннексина А5 и уровень антител к нему в крови больных острым коронарным синдромом. Результаты исследования представлены в табл. 2.

При анализе содержания в крови аннексина А5 по сравнению с контролем выявлено достоверное ($p < 0,05$) повышение данного показателя во всех группах больных без существенных различий между ними ($4,96 \pm 0,22$ нг/мл — у больных нестабильной стенокардией и $6,13 \pm 1,02$ нг/мл — при остром инфаркте миокарда).

Показатели липидного обмена у больных острым коронарным синдромом

Показатель	Контроль (N = 14)	Больные с нестабильной стенокардией (N = 67)	Больные с острым инфарктом миокарда (N = 16)
Общий холестерин	3,72 ± 1,22	5,97 ± 1,19*	6,59 ± 1,96*
Триглицериды	0,96 ± 0,21	2,51 ± 0,14*	3,03 ± 0,19**
α-холестерин (ЛПВП)	1,52 ± 0,22	0,71 ± 0,11*	0,57 ± 0,16*
Аполипопротеин А1	2,93 ± 0,91	2,41 ± 1,09	2,37 ± 0,15
Аполипопротеин В	1,99 ± 0,42	3,18 ± 1,02*	3,99 ± 0,93*
Лipoprotein (a) Lp(a)	14,1 ± 2,1	22,5 ± 2,61*	23,7 ± 2,92*
Антитела к окисленным липопротеинам низкой плотности (Anti-oxLDL antibody)	6,31 ± 1,97	29,61 ± 4,33*	34,71 ± 5,22**

Примечания: * — результат статистически достоверно отличается от нормы (p < 0,05);

** — статистически достоверные различия между группами (p < 0,05).

Вопрос об источниках поступления в кровь аннексина А5 при остром коронарном синдроме остается открытым. Поскольку А5 образуется в эндотелии, можно предположить, что повреждение эндотелиоцитов приведет к увеличению его в крови. В результате наших исследований была установлена взаимосвязь между увеличением содержания аннексина А5 в крови и факторами, повреждающими эндотелий (уровнем антител к окисленным липопротеинам низкой плотности (r = 0,59, p < 0,05), и липопротеином (a) (r = 0,61, p < 0,05). При антифосфолипидном синдроме образуются бивалентные комплексы антител (в том числе к аннексину А5) с со-

ответствующими протеинами, способные связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами клеточных мембран и конкурирующие с аннексинами, следствием чего также является повышение плазменного уровня аннексина А5 в крови и нарушение его антикоагулянтного эффекта в результате вытеснения с клеточной мембраны.

По нашим данным, при изучении содержания антител к аннексину А5 было установлено, что у больных острым коронарным синдромом частота выявления IgG-антител составила 55,4% (46 пациентов). Повышенный уровень антител отмечался у 7 пациентов с острым

Таблица 2

Содержание растворимой формы аннексина А5 и антител (IgG) к аннексину А5 при остром коронарном синдроме

Исследуемые показатели	Контроль (N = 14)	Больные с нестабильной стенокардией (N = 67)	Больные с острым инфарктом миокарда (N = 16)
Антитела к аннексину А5 (IgG) (Ед/мл)	5,08 ± 1,59	19,18 ± 2,92*	25,29 ± 4,11**
Аннексин А5 (нг/мл)	0,89 ± 0,11	4,96 ± 0,22*	6,13 ± 1,02*

Примечания: * — результат статистически достоверно отличается от нормы (p < 0,05);

** — статистически достоверные различия между группами (p < 0,05).

инфарктом миокарда (43,7%), и у 39 — с нестабильной стенокардией (58,2%). В зависимости от уровня позитивности IgG-антител к аннексину А5 больные распределялись следующим образом: низко-позитивный уровень IgG-антител к аннексину А5 отмечался у 10 пациентов (21,7%) и составил $3,92 \pm 1,09$ Ед/мл, средне-позитивный уровень — у 15 пациентов (32,6%) и составил $6,54 \pm 1,92$ Ед/мл, высоко-позитивный — у 21 пациента (45,6%) и составил соответственно $17,8 \pm 4,22$ Ед/мл. Нарастание уровня IgG-антител к аннексину А5 у больных острым коронарным синдромом соответствовало степени тяжести заболевания и коррелировало с содержанием аннексина А5 ($r = 0,68$, $p < 0,05$). Также выявлена положительная корреляция высоко-позитивных IgG-антител к аннексину А5 с содержанием факторов, повреждающих эндотелий (липопротеином (а) ($r = 0,69$, $p < 0,05$), и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности ($r = 0,71$, $p < 0,05$), а также с триглицеридами ($r = 0,61$, $p < 0,05$).

Обсуждение результатов

В результате проведенных исследований у больных острым коронарным синдромом выявлены свойственные атеросклерозу специфические нарушения липидного обмена — отмечался повышенный уровень триглицеридов, общего холестерина, аполипопротеина В, липопротеина (а) и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности. При этом у всех больных был низкий уровень холестерина ЛПВП. При анализе содержания в крови аннексина А5 по сравнению с контролем выявлено достоверное повышение данного показателя во всех группах больных без существенных различий между ними. Отмечалась положительная корреляция между содержанием аннексина А5 и уровнем антител к окисленным липопротеинам низкой плотности и липопротеином (а).

Эти данные свидетельствуют о том, что увеличение содержания аннексина А5 при остром коронарном синдроме может быть связано с дисфункцией эндотелия, развивающейся при атеросклерозе. Определение уровня липопротеина (а) и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности позволяет косвенно оценить состояние эндотелия, поскольку данные показатели относятся к факторам, повреждающим эндотелий, и коррелируют с эндотелиальной дисфункцией [3]. Поражение сосудов может быть обусловлено липопротеином (а), конкурирующим за места связывания с плазминогеном, что способствует снижению синтеза плазмина и подавлению фибринолиза. К другим эффектам липопротеина (а) относятся усиленное отложение холестерина в артериальной стенке, образование тучных клеток, продукция свободных кислородных радикалов моноцитами, пролиферация гладкомышечных клеток и хемотаксис моноцитов к клеткам эндотелия [18]. Окисленные

липопротеины низкой плотности (ЛПНП) играют критическую роль в развитии и прогрессировании атеросклероза. Переокисленная модификация ЛПНП сопровождается существенным повышением их иммуногенности. Образование антител к окисленным ЛПНП, захватываемым клетками артериальной стенки, является дополнительным фактором повреждения артерий при атеросклерозе.

Возможная роль эндотелия как источника аннексина А5 при остром коронарном синдроме подтверждается тем, что у этих больных ранее нами были выявлены объективные признаки дисфункции эндотелия (увеличение содержания в крови sVCAM и тромбомодулина) [5]. Увеличение А5 в крови при остром коронарном синдроме можно расценивать не только как показатель дисфункции эндотелия, но и как компенсаторный процесс, направленный на уменьшение выраженности тромбофилии, в том числе за счет снижения тромбогенного потенциала эндотелиоцитов, подвергшихся апоптозу.

При изучении содержания антител к аннексину А5 (IgG) было установлено, что у больных острым коронарным синдромом их уровень коррелировал с тяжестью заболевания, поскольку достоверное повышение данного показателя отмечалось как по сравнению с контролем, так и между группами больных. Повышение уровня IgG-антител к аннексину А5 коррелировало с содержанием аннексина А5. Также отмечалась положительная корреляция уровня IgG-антител к аннексину А5 с содержанием триглицеридов, липопротеина (а) и антител к окисленным липопротеинам низкой плотности.

Патогенное воздействие плазменных липопротеинов на стенку сосудов, вероятно, реализуется за счет механизмов, близких к тем, которые предполагаются для АФА (взаимодействие с компонентами коагуляционного каскада, активация тромбоцитов и прямое повреждающее действие на сосудистый эндотелий) [13, 19]. Известно, что триглицериды могут повышать свертываемость крови, этот эффект опосредуется за счет увеличения концентрации факторов свертывания крови I, VII, VIII, X и ингибитора активатора плазминогена 1-го типа, а также снижения активности тканевого активатора плазминогена. Богатые триглицеридами липопротеины могут также оказывать прямое атерогенное действие на сосудистую стенку [14]. Взаимосвязь уровня антител к А5 с факторами, повреждающими эндотелий, и с триглицеридами позволяет расценивать данный показатель как дополнительный тромботический стимул, обусловленный способностью АФА усиливать повреждение эндотелия. Антифосфолипидные антитела (АФА), которые включают и антитела к аннексину А5, нарушают локальную антикоагулянтную активность аннексина А5, разрушая «антитромботический» защитный щит и вытесняя аннексин А5 с поверхности эндотелиоцитов, тем самым усиливая апоптоз эндотелия, что приводит

к увеличению количества циркулирующих микрочастиц с прокоагулянтной активностью, экспрессирующих на своей поверхности фосфатидилсерин [20, 22, 23].

В норме их количество невелико, но значительно вырастает при остром коронарном синдроме, рассеянном склерозе и ряде других заболеваний. Эти микрочастицы рассматриваются как маркеры стимуляции и повреждения эндотелия, а также апоптоза. В физиологических условиях их появление, возможно, связано с репаративными процессами; микрочастицы поддерживают генерацию малых количеств тромбина, который активирует антикоагулянтную функцию протеина С [8, 9]. При

большом поступлении микрочастиц плазматической мембраны эндотелия (и тромбоцитов) увеличивается прокоагулянтная активность крови за счет экспрессии на их поверхности фосфатидилсерин. Этот механизм играет важную роль в патогенезе тромбофилии при атеросклерозе [7, 10, 21].

Таким образом, повышение в крови больных острым коронарным синдромом аннексина А5 и антител к А5 и выявленная прямая корреляция между их содержанием и факторами, повреждающими эндотелий, позволяет использовать данные показатели для оценки сосудистой тромбофилии при данной патологии.

Литература

1. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. — СПб.: ПитерКом, 1999. — 512 с.
2. Насонов Е. Л., Баранов А. А., Шилкина Н. П., Алекберова З. С. Общая характеристика антифосфолипидных антител. Патология сосудов при антифосфолипидном синдроме (клиника, диагностика, лечение). — М.—Ярославль, 1995; 18–27.
3. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Под ред. Н. Н. Петрищева. — СПб.: Изд-во СПбГМУ. — 2003. — 184 с.
4. Панченко Е. П. Механизмы развития острого коронарного синдрома // РМЖ. — 2000. — Том 8, № 8. — С. 18–21.
5. Петрищев Н. Н., Васина Л. В. Аннексин А5 и дисфункция эндотелия // Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И. П. Павлова. — Том XI. — № 3. — 2004. — Приложение. — С. 45–47.
6. Arnoux D., Boutiere B., Sanmarco M. Antiphospholipid antibodies: clinical significance and biological diagnosis // *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. — 2000. — Vol. 58. — N 5. — P. 557–574.
7. Badimon L., Badimon J., Fuster V. Pathogenesis of thrombosis // *Thrombosis in cardiovascular disease* // Eds. V. Fuster, M. Verstraete. — Philadelphia, Pa: W.B. Saunders, 1992. — P. 17–39.
8. Berckmans R. J., Neiuwland R., Boing A. N., Romijn F. P., Hack C. E. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation // *Thromb. Haemost.*, 2001. — N 85 (4). — P. 639–646.
9. Bombeli T., Karsan A., Harlan J. M. Apoptotic vascular endothelial cells become procoagulant. *Blood*, 1997; 89: 2429–2442.
10. Bjorkerud S., Bjorkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T-cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plague instability // *Am. J. Pathol.*, 1996. — N 149(2). — P. 367–380.
11. Fadok V. A., Bratton D. L., Warner M. L., Henson P. M. The role of phosphatidylserine in recognition of apoptotic cells by phagocytes. *Cell Death Dyjer*, 1998; 5: 551–562.
12. Fadok V., Rose D. M., Pearson A., Ezekewitz R. A., Henson P. M. A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature*, 2000; 405: 85–90.
13. Gotto A. M. Contemporary diagnosis and management of lipid disorders. — Pennsylvania: Handbooks in Health Care Co., 2001. — P. 238.
14. Grundy S. M., Vega G. L. Two different views of the relationship of hypertriglyceridemia to coronary heart disease. Implications for treatment. *Arch. Intern. Med.*, 1992; 152: 28–34.
15. Libby P. Molecular basis of the acute coronary syndromes // *Circulation*, 1995. — Vol. 91. — P. 2844–2850.
16. Meier P., Finch A., Evan G. Apoptosis in development. *Nature*, 2000; 407: 796–801.
17. Reutelingsperger C. P. M., van Heerde W. L. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine-catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis // *Cell Mol. Life Sci.*, 1997. — Vol. 53. P. 527–532.
18. Rhoads G. G., Dahlen G., Berg K., Morton N. E., Dannenberg A. L. Lp(a) lipoprotein as a risk factor for myocardial infarction. *JAMA* 1986; 256: 2540–4.
19. Silver R. K., Adler L., Hickman A. R. Anticardiolipin antibody — positive serum enhances endothelial cell platelet-activating factor production. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1991; 165: 6: 1748–1752.
20. Simak J., Holada K., Vostal J. G. Release of annexin A5-binding membrane microparticles from cultured human umbilical vein endothelial cells after treatment with camptothecin // *BMC Cell Biol.*, 2002. — N 3(1). — P. 11.
21. Stefanadis C., Diamantopoulos L., Dornellis J. et al. Heat production of atherosclerotic plaques and inflammation assessed by the acute phase proteins in acute coronary syndromes // *J. Mol. Cel. Cardiol.*, — 2000. — Vol. 32. — P. 43–52.
22. Swairjo M. A., Concha N. O., Kaetzel M. A., Dedman J. R., Seaton BA. Cabridging mechanism and phospholipid head group recognition in the membrane-binding protein annexin V. *Nat. Struct. Biol.*, 1995; 2: 968–74.
23. Vanags D. M., Coppola S., Burgess D. H. Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis / *Biol. Chem.*, 1996; 271: 31 075–31 085.

МУЛЬТИСПИРАЛЬНАЯ РЕНТГЕНОВСКАЯ КОМПЬЮТЕРНО-ТОМОГРАФИЧЕСКАЯ АНГИОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

В. И. АМОСОВ, А. А. СПЕРАНСКАЯ, О. В. ЛУКИНА
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Росздрава,
кафедра рентгенологии и радиологии

Резюме. Тромбоэмболия легочной артерии является частым осложнением онкологических процессов, ухудшает течение основного заболевания. Большинство неинвазивных методов диагностики (ЭКГ, ЭхоКГ, рентгенография органов грудной клетки, сцинтиграфия, данные лабораторных исследований) позволяют определить лишь косвенные признаки эмболии легочной артерии. Прямой признак тромбоэмболии легочной артерии выявляет ангиопульмонография, являющаяся тяжелым инвазивным исследованием, зачастую технически не выполнимым у онкологических пациентов. Компьютерно-томографическая ангиография, выполняемая на мультиспиральных компьютерных томографах, является малоинвазивным исследованием, позволяющим достоверно поставить диагноз «тромбоэмболия легочной артерии» у тяжелых онкологических пациентов. Данный метод дает также полную характеристику опухолевого процесса (распространенность патологических масс, прорастание их в жизненно важные структуры, ближайшие и отдаленные метастазы) и, таким образом, является методом выбора в диагностике опухолевого поражения в сочетании с тромбоэмболией легочной артерии.

Ключевые слова: мультиспиральная рентгеновская компьютерно-томографическая ангиография, тромбоэмболия легочной артерии, онкология.

MULTISPIRAL COMPUTER TOMOGRAPHY IN ANGIOGRAPHIC REGIMEN IN DIAGNOSTICS OF PULMONARY EMBOLISM IN PATIENTS WITH MALIGNANT NEOPLASMS

V. I. AMOSOV, A. A. SPERANSKAYA, O. V. LUKINA
State Educational Institution of Higher Professional Education «Saint-Petersburg State I. P. Pavlov Medical University, Federal Agency for Health Care and Social Development», Rentgenology and Radiology Chair

Summary. Pulmonary embolism is a frequent complication in patients with malignant neoplasms and has a negative impact on the course of the main disease. Most of non-invasive diagnostic methods (ECG, Echocardiography, chest X-ray, isotope scanogram, laboratory tests) are able only to find the indirect signs of the embolism, while the direct signs are revealed by angiopulmonography, which is an invasive method which often can not be performed in patients with malignant neoplasms. Multispiral computer tomography in angiographic regimen is a non-invasive method which gives possibility to prove the diagnosis of pulmonary embolism in patients with neoplasms. At the same time the method gives complete characteristics of a tumor (size, growth into nearby structures, near and distant metastases). Thus, multispiral computer tomography in angiographic regimen is the method of choice in patients with neoplasms and pulmonary embolism.

Key words: multispiral computer tomography in angiographic regimen, pulmonary embolism, oncology.

В настоящее время оценка распространенности опухолевого поражения различных локализаций (рака легкого, поджелудочной железы, почек, предстательной железы, толстой кишки, молочной железы, лимфо-пролиферативных заболеваний) производится с помощью мультиспиральной рентгеновской компьютерной томографии в условиях болюсного контрастирования (мультиспиральной компьютерно-томографической ангиографии — МСКТА) [2]. При этом в случае новообразований органов грудной клетки одновременно можно выявить осложнение первичного процесса тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) [3]. В то же вре-

мя, если клинически предполагается наличие ТЭЛА у пациентов с опухолями органов брюшной полости и забрюшинного пространства, объем исследования необходимо расширить и включить в план исследования МСКТА грудной клетки.

Тромбоэмболия легочной артерии является частым осложнением онкологических процессов, ухудшает течение основного заболевания и часто остается нераспознанной [1].

Выявление ТЭЛА требует назначения дополнительного лечения. Для подтверждения ТЭЛА применяются разнообразные диагностические методики (ЭКГ, ЭхоКГ,

рентгенография органов грудной клетки, сцинтиграфия, данные лабораторных исследований), однако все они позволяют определить лишь косвенные признаки эмболии легочной артерии. Прямой признак ТЭЛА — наличие эмболов в ветвях легочной артерии выявляет ангиопульмонография, являющаяся тяжелым инвазивным исследованием, зачастую технически не выполнимым у онкологических пациентов.

В последние годы все большее значение в выявлении ТЭЛА придается мультиспиральной компьютерной томографии в условиях ангиографии.

Таким образом, лечащий врач за одно исследование получает всю информацию, необходимую для планирования лечения.

Материалы и методы

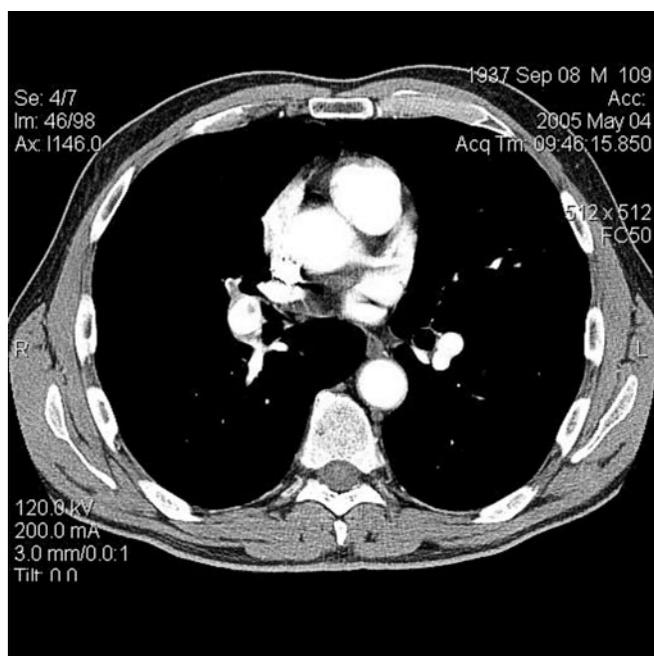
Для уточнения возможностей МСКТА в диагностике ТЭЛА у онкологических больных нами были отображены исследования 32 пациентов (11 женщин, 21 мужчина). Возраст больных составлял от 38 до 82 лет. Среди пациентов были больные с периферическим раком легкого (6 человек), центральным раком легкого (12 больных), раком молочной железы (6 пациенток), раком поджелудочной железы (4 больных), раком почки (2 больных), раком предстательной железы (1 пациент), лимфомой Ходжкина (1 больной). Исследование проводилось на мультиспиральном рентгеновском компьютерном томографе «Asteion» фирмы «Toshiba».

Всем пациентам внутривенно болюсно вводилось 100 мл неионного контрастного вещества со скоростью 3–4 мл/с. Сканирование начиналось автоматически, при достижении уровня контрастирования ствола легочной артерии +100HU, время задержки сканирования колебалось от 6 до 22 с. Сканирование проводилось в каудокраниальном направлении (для устранения артефактов от интенсивно контрастирующейся верхней полой вены) с толщиной среза 2 мм, что позволяло визуализировать тромбы в мелких ветвях легочной артерии. Завершалось исследование построением многоплоскостных и объемных реформаций изображения.

Результаты исследования

При проведении МСКТА оценивался первичный опухолевый узел, его распространение на жизненно важные структуры, наличие региональных и отдаленных метастазов. У всех больных нами был подтвержден диагноз ТЭЛА (крупных ветвей — у 25 пациентов, мелких — у 7). У всех пациентов определялся прямой признак ТЭЛА — дефекты заполнения ветвей легочной артерии контрастным веществом. Дефекты мелких ветвей выявлены у 18 пациентов, у 25 больных определялись тромбы в крупных ветвях, у 15 пациентов были выявлены множественные дефекты наполнения мелких и крупных ветвей легочной артерии (рис. 1).

На аксиальном КТ-срезе органов грудной клетки, выполненном в условиях спиральной компьютерно-



а



б

Рис. 1. Больной 3., 68 л.
КТ-картина периферического рака аксиллярного субсегмента верхней доли правого легкого, осложнившегося тромбоэмболией легочной артерии

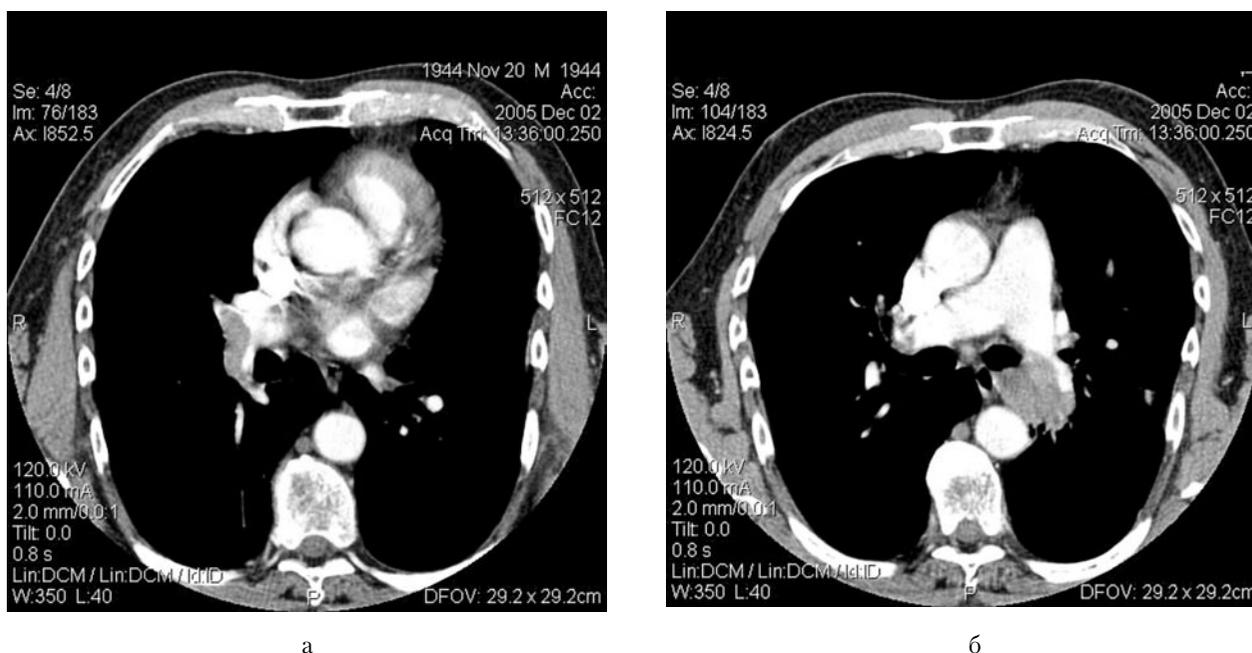


Рис. 2. Больной М., 61 г.
Центральный рак левого главного бронха с прорастанием в левую главную ветвь легочной артерии.
Тромбоэмболия ветвей легочной артерии справа

томографической ангиографии (а) и реформации изображения (MPR) (б) в аксилярном субсегменте верхней доли правого легкого выявляется образование мягкотканой плотности, имеющее нечеткие, лучистые контуры, отмечается «вырезка Риглера». Определяются дефекты заполнения главных и долевого ветвей легочной артерии контрастным веществом за счет наличия тромбов неправильной формы.

Косвенные признаки ТЭЛА определялись у 30 пациентов (и сочетались с прямыми признаками): наличие инфарктов легкого — у 28 больных, мозаичность легочного рисунка — у 19 пациентов, дисковидные ателектазы — у 23 больных, расширение бронхиальных артерий — у 9 больных. Жидкость в плевральных полостях выявлялась у 18 больных, в полости перикарда — у 7 пациентов.

У 5 пациентов с центральным раком легкого было выявлено прорастание опухолью ветвей легочной артерии с частичной или тотальной ее обтурацией (рис. 2).

На аксиальных КТ-срезах органов грудной клетки, выполненных в условиях спиральной компьютерно-томографической ангиографии (а, б), выявляется мягкотканый узел, имеющий неровные, бугристые контуры, инфильтрирующий заднюю стенку левого главного и верхнедолевого бронхов, переднюю стенку нисходящего отдела грудной аорты и заднюю стенку левой главной ветви легочной артерии (прорастание). Определяются множественные дефекты заполнения ветвей легочной артерии справа.

Заключение

Компьютерно-томографическая ангиография, выполняемая на мультиспиральных компьютерных томографах, является малоинвазивным, необременительным исследованием, позволяющим достоверно поставить диагноз ТЭЛА у тяжелых онкологических пациентов, влияя на тактику их лечения. Проведение МСКТА одновременно дает полную характеристику опухолевого процесса (распространенность патологических масс, прорастание их в жизненно важные структуры, ближайшие и отдаленные метастазы) и присоединения к нему ТЭЛА. Таким образом, МСКТА является методом выбора в диагностике опухолевого поражения в сочетании с ТЭЛА.

Литература

1. Кармазановский Г. Г. Спиральная компьютерная томография: контрастное усиление. — М.: Видар, 2005. — 375 с.
2. Тюрин И. Е. Компьютерная томография органов грудной полости. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. — 371 с.
3. Michelle S. Ginsberg, Ravinder S. Grival et all. Computed tomography of lung cancer // Radiol. Clin. N. Am., 2005, 43: 1049–1062.

РОЛЬ ДЕПРЕССИИ В РАЗВИТИИ ОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМА

Е. Е. БОБРОВСКАЯ, В. Е. КОН, Е. А. УСОВА, Н. Н. БУРОВА, А. Э. КУТУЗОВА

ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова, Санкт-Петербург

Резюме. Важным аспектом проблемы депрессии является тот факт, что она может быть самостоятельным фактором риска многих соматических заболеваний, в первую очередь патологии сердечно-сосудистой системы. Доказаны механизмы влияния депрессии на активность тромбоцитов и их спонтанную агрегацию за счет нарушения функции имидазолиновых, серотониновых рецепторов тромбоцитов, увеличения содержания IV тромбоцитарного фактора, β -тромбоглобулина. В то же время тромбоцитарные расстройства являются одним из важных патогенетических факторов развития острого коронарного синдрома. Показано, что наличие депрессивных состояний также вносит вклад в развитие таких осложнений заболевания, как ранняя постинфарктная стенокардия, сердечная недостаточность. В связи с этим представляется необходимым при ведении пациентов с острым коронарным синдромом проведение психологических тестов с целью выявления возможных депрессивных состояний с дальнейшей их коррекцией на ранних этапах заболевания.

Ключевые слова: депрессия, острый коронарный синдром.

DEPRESSION IN DEVELOPMENT OF ACUTE CORONARY SYNDROME

E. E. BOBROVSKAYA, V. E. KON, E. A. USOVA, N. N. BUROVA, A. E. KUTUZOVA

Federal State Institution «V. A. Almazov Federal Center of Heart, Blood and Endocrinology», Saint-Petersburg

Summary. Important aspect of depression is that it can be an independent risk factor for somatic disorders, first of all diseases of cardiovascular system. Influence of depression on platelets activity and platelets spontaneous aggregation is proved. This influence is mediated through imidazolin and serotonin receptors dysfunction, increase of IV platelets factor level, β -thromboglobulin level. At the same time platelets disorders are one of the main pathogenetic factors for development of acute coronary syndrome. Depression also has an important impact in development of complications of acute coronary syndrome including early postinfarction angina and heart failure. Because of this psychological tests can be important method used in observation of patients with acute coronary syndrome in order to reveal and treat the depressive disorders.

Key words: depression, acute coronary syndrome.

В настоящее время депрессии достаточно широко распространены среди населения, и по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) встречаются у 3–6% человек в мире. Ежегодно регистрируется до 200 млн человек в мире, вновь заболевших депрессией. По прогнозу ВОЗ, к 2010–2015 гг. депрессия выйдет на первое место по распространенности среди всех заболеваний, а к 2020 г. депрессия будет занимать второе место после ишемической болезни сердца среди заболеваний, приводящих к инвалидности.

До половины больных депрессией не обращаются за медицинской помощью, из остальных — более 80% наблюдаются не у психиатров, а у врачей общей практики [8].

В соответствии с критериями Международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ 10), классификации психических и поведенческих расстройств (World Health Organization, 1994) выделяют ряд основных и дополнительных симптомов депрессивного эпизода. К основным симптомам относят:

— сниженное, подавленное настроение (вне зависимости от ситуации);

— снижение или утрата интересов и способности испытывать удовольствие;

— сниженная активность и повышенная утомляемость.

Дополнительные симптомы включают снижение концентрации внимания, неспособность сосредоточиться; сниженная самооценка и чувство неуверенности в себе; идеи виновности и самоуничтожения; мрачное и пессимистичное видение будущего; повторяющиеся мысли о смерти, действия по самоубийству или самоповреждению; нарушение сна; нарушение аппетита (с изменением массы тела).

Диагноз депрессивного эпизода устанавливается при выявлении указанных симптомов в течение 2 и более недель. Различные сочетания симптомов определяют степень тяжести депрессивного эпизода.

При всех соматических заболеваниях отмечаются те или иные психические реакции на факт развития болезни. В свою очередь, соматическое заболевание оказывает непосредственное воздействие на психические процессы на метаболическом уровне вследствие интоксикации, гипоксии и других влияний. Основными формами вза-

имодействия депрессии с соматическими заболеваниями являются:

- проявление депрессии в виде соматического заболевания;
- существование депрессии и соматического заболевания;
- развитие депрессии вследствие соматического заболевания;
- медикаментозно обусловленные депрессии.

Важным аспектом проблемы депрессии является тот факт, что она может быть самостоятельным фактором риска многих соматических заболеваний, в первую очередь патологии сердечно-сосудистой системы. На долю депрессий приходится более 80% от всех аффективных расстройств, встречающихся у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями [1]. Распространенность депрессии среди больных ишемической болезнью сердца в России составляет более 20% (данные ГНИЦ профилактической медицины МЗ РФ 1998 г.). Наиболее часто депрессивные и тревожно-депрессивные расстройства отмечаются у больных ИБС, перенесших острые коронарные инциденты или операции на сосудах сердца. В многочисленных исследованиях убедительно доказана четкая связь течения инфаркта миокарда (ИМ), его осложнений и прогноз с возникновением тревожно-депрессивных расстройств у больных с этой патологией. Значение депрессии как предиктора смерти оказалось сопоставимо с прогностической значимостью низкой фракции выброса левого желудочка и тяжестью ИМ [9].

Возможные патогенетические механизмы влияния депрессии на развитие острого коронарного синдрома

Депрессия — это не просто определенное психологическое состояние больного, но целый каскад нейрогуморальных процессов, сопровождающихся выраженными нарушениями функций ряда органов и систем организма. В первую очередь это относится к сердечно-сосудистой системе.

В настоящее время определяющей является модель патогенеза депрессии, основанная на особенностях нарушений функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой [14], гипофизарно-гипоталамо-тиреоидной [11], иммунной [12] и некоторых других систем организма [10]. Доминирующей является обсуждаемая в литературе связь между депрессией и гиперактивностью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, симпатoadrenalовой и иммунной систем, в сочетании с подавлением активности серотонинергической системы [5]. Стресс, связанный с развитием депрессии, сопровождается выбросом кортикотропин-релизинг фактора (КТРФ) из гипоталамуса. КТРФ начинает стимулировать чувствительные рецепторы передней доли гипофи-

за. В ответ на это происходит выброс адренокортикотропного гормона (АКТГ), который, в свою очередь, активирует высвобождение глюкокортикоидов (кортизола) из коры и норадреналина из мозгового слоя надпочечников. В норме эти процессы вскоре прекращаются по принципу обратной связи: нет стресса — нет активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. При депрессии развивается запредельная гиперактивность этой системы, что в конечном итоге приводит к снижению активности мозгового нейротрофического фактора и синтеза гормона роста (ГР). Пониженный уровень ГР увеличивает уровень липопротеидов низкой плотности и снижает уровень липопротеидов высокой плотности.

Сравнительно недавно были получены клинические и экспериментальные данные, свидетельствующие о роли иммунитета, в первую очередь — гиперсекреции провоспалительных цитокинов в возникновении и течении депрессивных расстройств. Гиперсекреция провоспалительных цитокинов (в частности, ФНО- α) вызывает повреждающее действие на миокард [Нойберг, 2000] и может явиться причиной ремоделирования миокарда и стимуляции негативных инотропных эффектов. Снижение сократительной способности у больных с острым коронарным синдромом через этот механизм, вероятно, приводит к дополнительному ослаблению коронарного перфузионного давления в инфаркт-связанной коронарной артерии.

Известно, что депрессия повышает активность тромбоцитов и увеличивает спонтанную агрегацию тромбоцитов за счет нарушения функции имидазолиновых, серотониновых рецепторов тромбоцитов (5-НТ), увеличения содержания IV тромбоцитарного фактора, β -тромбоглобулина [7]. Повышенная агрегация тромбоцитов и гиперкоагуляция могут лежать как в основе острого коронарного синдрома, так и усугублять течение последнего.

Все вышеизложенные механизмы развития депрессивных состояний вносят несомненный вклад не только в развитие острого коронарного синдрома, но и в развитие таких осложнений заболевания, как ранняя постинфарктная стенокардия, сердечная недостаточность.

Представляется необходимым при ведении пациентов с острым коронарным синдромом проведение психологических тестов (таких как Шкала Готланда для оценки депрессии, госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS), методика СМОЛ) с целью выявления возможных депрессивных состояний с дальнейшей их коррекцией на ранних этапах заболевания.

Правильная диагностика депрессии у больных с острым коронарным синдромом — важная предпосылка в принятии решения о своевременном лечении депрессии и тем самым — профилактики осложнений острого коронарного синдрома, улучшения прогноза заболевания, повышения качества жизни и социальной адаптации пациентов с сердечно-сосудистой патологией.

Литература

1. Аронов Д. М., Бубнова М. Г., Погосова Г. В. Постстационарный этап реабилитации больных ишемической болезнью сердца // Сердце, 2005, № 2. — С. 103–107.
2. Бурова Н. Н., Козулин В. Ю., Шляхто Е. В. Ранняя постинфарктная стенокардия // Сердце, 2005, № 2. — С. 72–74.
3. Зимин Ю. В. Ранняя постинфарктная стенокардия // Кардиология, 1993, № 3. — С. 67–73.
4. Погосова Г. В. Депрессия — новый фактор риска ишемической болезни сердца и предиктор коронарной смерти // Кардиология, 2002, № 4. — С. 86–89.
5. Сыркин А. Л. Инфаркт миокарда // М.: МИА, 2003. — 466 с.
6. Сыркин А. Л. Ишемическая болезнь сердца и соматизированные депрессии: особенности клиники, дифференциальной диагностики и терапевтических подходов // Consilium medicum, 2003, Экстравыпуск. — С. 79.
7. Чазов Е. И. Депрессия как фактор развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний // Сердечно-сосудистая недостаточность, 2003, т. 4. — С. 1, 6–8.
8. Чумакова Г. А., Бабушкин И. Е., Бобровская Л. А., Смагина И. В., Макашов С. Н. Психосоматические проблемы в кардиологии. Методические рекомендации. Барнаул, 2005.
9. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina) // Circulation, 1998; 98: 1860–1865.
10. Jacson I. M. The thyroid axis and depression // Thyroid, 1998; 8: 951–956.
11. Jackson I. M. Invest. Med., 1998; 46: 470–474.
12. Macs M. The immunoregulatory effects of antidepressants. Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp., 2002; 16: 95–103, Song C. The interaction between cytokines and neurotransmitters in depression and stress; possible mechanism of antidepressant treatments // Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp., 2000; 15: 199–211.
13. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST segment elevation/The Task Force on the management of acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology // European Heart Journal, 2003; 24; 28–66.
14. Plotsky P. M., Owens M. J., Nemeroff C. B. Psychiatr. Clin. N. Am., 1998; 21: 293–307.



МЕДИА МЕДИКА, ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ

Журналы:

«Consilium Medicum»,
«Consilium Provisorum»,
приложения (Consilium Medicum Педиатрия,
Consilium Medicum Гастроэнтерология,
Consilium Medicum Хирургия,
Consilium Medicum Дерматология),
«Гинекология»,
«Современная Онкология»,
«Инфекция и антимикробная терапия»,
«Психиатрия и психофармакотерапия»,
«Обозрение психиатрии и медицинской психологии
им. В. М. Бехтерева»,
«Справочник поликлинического врача»,
«Болезнь Сердца и сосудов»,
«Популярная Медицина»,
газета «Первостольник».

Россия, 125047, г. Москва, ул. 1-я Брестская, 15
Телефон/факс. (095) 234-37-84, 978-91-80
E-mail: media@consilium-medicum.com
URL: www.consilium-medicum.com

MEDIA MEDICA PUBLISHING HOUSE

1st Brestkaya St., 15. Moscow 125047, Russia;
tel./fax 234-37-84, 978-91-80
<http://www.consilium-medicum.com>,
e-mail: media@consilium-medicum.com

The Journals:

“Consilium Medicum”,
Supplements (Consilium Medicum Pediatrics,
Consilium Medicum Gastroenterology,
Consilium Medicum Surgery,
Consilium Medicum Dermatology),
“Ginekologiya” (“Gynecology”),
“Sovremennaya Onkologiya” (“Modern Oncology”),
“Infektsiya i Antimikrobnaya Terapiya”
 (“Infection and Antimicrobial Therapy”),
“Psikhiatriya i Psikhofarmakologiya”
 (“Psychiatry and Psychopharmacotherapy”),
“Obzor Psikhiatrii i Psikhologii im. V. M. Bekhtereva”
 (“Review of Psychiatry and Psychology named after
V. M. Bekhterev”),
“Spravochnik Poliklinicheskogo Vrach’a”
 (“Outpatient Physician’s Guide”),
“Populyarnaya Meditsina” (“Popular Medicine”).

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЗОМ ГЛУБОКИХ ВЕН

С. И. КАПУСТИН*, Н. Б. САЛТЫКОВА*, В. Д. КАРГИН*,
Н. А. ВОРОБЬЕВА**, А. М. ПАНШИНА*, В. М. ШМЕЛЕВА*,
М. Н. БЛИНОВ*, Л. П. ПАПАЯН*

* ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Федерального агентства
по здравоохранению и социальному развитию, Санкт-Петербург

** ГОУ ВПО Северный государственный медицинский университет Федерального агентства
по здравоохранению и социальному развитию, г. Архангельск

Резюме. Венозный тромбоз представляет серьезную медико-социальную проблему. Значительная часть тромботических эпизодов в системе нижней полой вены сопровождается тромбозом легочной артерии (ТЭЛА), что определяет необходимость поиска факторов риска этого наиболее опасного для жизни клинического проявления венозного тромбоза. В работе изучена роль аллельного полиморфизма 16-ти генов, вовлеченных в регуляцию гемостаза, в формировании риска возникновения ТЭЛА у больных с тромбозом глубоких вен (ТГВ). Выявлен целый ряд генетических вариантов (генотипов и их сочетаний), характерных для пациентов с ТГВ, осложненным ТЭЛА. Установлено, что генетически обусловленная склонность к повышенной активации тромбоцитарного звена гемостаза является важным фактором риска ТЭЛА, особенно при сочетании с аллельными вариантами, ассоциированными с эндотелиальной дисфункцией. Анализ «ген-генных взаимодействий» обнаружил значительные различия в спектре генетических вариантов, увеличивающих риск развития ТЭЛА у больных с ТГВ, являющихся носителями мутации в гене фактора II или V. Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии генетической вариативности компонентов, вовлеченных в регуляцию гемостаза, не только на предрасположенность к ВТ, но и на особенности его клинического течения, в том числе риск возникновения ТЭЛА.

Ключевые слова: тромбоз, тромбофилия, венозный тромбоз, ген, полиморфизм, фактор риска.

GENETIC RISK FACTORS FOR PULMONARY EMBOLISM IN PATIENTS WITH DEEP VEINS THROMBOSIS

S. I. KAPUSTIN*, N. B. SALTYKOVA*, V. D. KARGIN*, N. A. VOROBJOVA**,
A. M. PANSHINA*, V. M. SHMELEVA*, M. N. BLINOV*, L. P. PAPAYAN*

* Federal State Institution «Russian Scientific Research Institute for Hematology and Transfusiology,
Federal Agency for Health Care and Social Development», Saint-Petersburg

** State Education Institution for Higher Professional Education «Northern State Medical Institute,
Federal Agency for Health Care and Social Development», Arkhangelsk

Summary. Venous thromboembolism is a serious medical and social problem. Significant part of thromboembolic episodes in vena cava inferior system is accompanied by pulmonary embolism, so that risk factors for this dangerous complication are to be investigated. The role of allele polymorphism of 16 genes, involved in hemostasis regulation which can be the risk factor for pulmonary embolism in patients with deep veins thrombosis. The number of genetic variants (genotypes and their associations) typical for patients with deep veins thrombosis with pulmonary embolism. It is proved that genetically predisposed trend to increase of the platelet component of hemostasis is an important risk factor for pulmonary embolism, especially in case if allele variants associated with endothelial dysfunction are present. Analysis of «gene-gene interactions» revealed significant difference in spectrum of genetic variants increasing the risk of pulmonary embolism in patients with deep veins thrombosis, carrying mutations in gene of factor II «20210G/A» or V «1691G/A». The obtained results confirm the significant influence of genetic variability of components involved in hemostasis regulation, not only on predisposition to deep veins thrombosis, but also on peculiarities of its clinical course and risk of pulmonary embolism.

Key words: thrombosis, thrombophilia, venous thromboembolism, gene, polymorphism, risk factor.

Введение

Несмотря на все достижения современной медицины, тромбоэмболические заболевания по-прежнему остаются ведущей причиной смертности и инвалидизации в индустриально развитых странах. Частота возникновения венозного тромбоэмболизма (ВТ) в общей популяции составляет 1–2 случая на тысячу населения ежегодно. Одной из важнейших особенностей ВТ является гетерогенность его клинических проявлений. Более 90% тромботических эпизодов локализируются в системе нижней полой вены, основная их часть протекает бессимптомно и обнаруживается лишь впоследствии, при развитии хронической венозной недостаточности, тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА), и, к сожалению, достаточно часто на аутопсии [8]. Фатальная ТЭЛА является первым и единственным проявлением в 10–20% случаев ВТ и занимает третье место в общей структуре причин внезапной смерти [3, 9]. Установление факторов риска (ФР) ТЭЛА у больных с тромбозом глубоких вен (ТГВ) представляется чрезвычайно актуальной задачей.

В настоящее время особое место в патогенезе ВТ отводится повышенной склонности индивида к развитию тромбоза, или тромбофилии. Данное состояние может быть обусловлено как генетическими, так и приобретенными факторами [1]. К числу классических форм наследственной тромбофилии относятся дефицит естественных антикоагулянтов, мутации в генах факторов II и V свертывания крови, которые обнаруживаются, в целом, у 25–50% больных с ВТ [5]. Следует, однако, признать, что молекулярные аспекты патогенеза ВТ остаются недостаточно изученными. В связи с общепринятой концепцией полигенной предрасположенности к тромбозу в последние годы особый интерес уделяется изучению аллельного полиморфизма генов важнейших компонентов, вовлеченных в регуляцию функциональной активности гемостаза [10, 18]. Несмотря на интенсивный поиск новых генетических детерминант ВТ, данные о роли большей части полиморфизмов ДНК в развитии ВТ остаются весьма противоречивыми. Сложившаяся ситуация во многом объясняется многофакторной природой ВТ и сложным характером взаимодействия генетических и экзогенных ФР, лежащих в основе или провоцирующих развитие патологических сдвигов в системе гемостаза [15]. В то же время публикации, в которых проводится анализ подобных взаимодействий, весьма немногочисленны. К сожалению, упомянутая выше гетерогенность клинических проявлений ВТ также, как правило, не принимается во внимание авторами, работающими в области молекулярной эпидемиологии ВТ. Отсутствие исследований, направленных на установление коррелятивных связей между особенностями клинического течения тромботического процесса и наличием определенных маркеров в геноти-

пе пациента, оставляет нерешенным целый ряд вопросов относительно целесообразности диагностики тех или иных ДНК-полиморфизмов в клинической практике.

В данной работе на основании комплексного анализа аллельного полиморфизма 16-ти генов, ассоциированных с дисфункцией плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, а также сосудистой стенки, определены генетические варианты, увеличивающие риск развития ТЭЛА у больных с ТГВ.

Материалы и методы

Обследуемую группу составили 420 больных с тромбозом глубоких вен в системе нижней полой вены (205 мужчин и 215 женщин, средний возраст $42,4 \pm 15,0$ года), проживающих в Северо-Западном регионе России. Критериями отбора больных являлось наличие в анамнезе объективно доказанного эпизода ТГВ, а также отсутствие в анамнезе эпизодов артериального тромбоза, иных проявлений артериальной патологии (ишемическая болезнь сердца, цереброваскулярные заболевания, облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей), онкологических и гематологических заболеваний. Для подтверждения диагноза ТГВ использовалось ультразвуковое доплерографическое ангиосканирование, у пациентов с ТЭЛА проводились обзорная рентгенография органов грудной клетки, электрокардиографическое исследование, по показаниям — перфузионная сцинтиграфия или/и ангиография легких. В 303 (72,1%) случаях клинико-инструментальное обследование не выявило признаков ТЭЛА (подгруппа «изолированный ТГВ»), тогда как у 117 (27,9%) пациентов ТГВ осложнился развитием ТЭЛА (подгруппа «ТГВ + ТЭЛА»).

Образцы геномной ДНК выделяли из лейкоцитарной фракции периферической крови по методу Miller S. A. et al. [13]. Идентификацию аллельных вариантов осуществляли на основе технологии полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом и/или разделением продуктов в полиакриламидном геле. В работе изучен аллельный полиморфизм 16-ти различных генов:

1) гены, кодирующие компоненты плазменного звена гемостаза (факторы I, II, V, XII свертывания крови, тканевой активатор плазминогена — ТРА, ингибитор активатора плазминогена типа I — PAI-1);

2) гены, кодирующие компоненты тромбоцитарных рецепторов, опосредующих процессы адгезии и агрегации кровяных пластинок (гликопротеины Ia, Ib α , IIIa, тромбоцитарный рецептор АДФ — P2Y₁₂);

3) гены компонентов, вовлеченных в патогенез эндотелиальной дисфункции (метилентетрагидрофолат редуктаза — MTHFR, аполипопротеин E — ApoE, эндотелиальная синтаза оксида азота — eNOS, ангиотензиноген — AGT, ангиотензин-превращающий фермент — ACE, рецептор ангиотензина II первого типа — ATGR1).

Частоту встречаемости аллелей и генотипов определяли прямым подсчетом. При проведении анализа «ген-генных взаимодействий» оценка статистической значимости «неравновесия по сцеплению» между изученными ДНК-полиморфизмами осуществлялась с помощью программ «GenePop» и «GDA», доступных в Интернете. Анализ ассоциативных связей внутри генотипических сочетаний, а также оценку степени различий в частоте встречаемости аллелей, генотипов и межгенных комбинаций между исследуемыми группами проводили с помощью точного критерия Фишера. Для расчета коэффициента «отношения шансов» (OR) с 95% доверительным интервалом (CI) и р-значения использовался статистический пакет GraphPad Prism, версия 2 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA).

Результаты и обсуждение

При анализе распределения генотипов было обнаружено более чем 10-кратное увеличение доли гомозиготных носителей варианта «P2Y12 H2» гена тромбоцитарного рецептора АДФ в подгруппе «ТГВ + ТЭЛА» (3,4% против 0,3% у пациентов с изолированным ТГВ, OR = 10,7, 95% CI: 1,2–97,0; p = 0,023). Вариабельность гена P2Y12 была впервые описана Fontana P. et al. в 2003 году [6]. Авторы идентифицировали пять ДНК-полиморфизмов, четыре из которых находятся в полном неравновесном сцеплении и образуют два гаплотипа — H1 и H2. Было также показано, что у здоровых лиц носительство гаплотипа H2 коррелирует с увеличением максимальной агрегации тромбоцитов в ответ на стимуляцию 2мкМ АДФ, а также с уменьшением внутриклеточной концентрации цАМФ [6]. Несколько позже эта же группа ученых сообщила, что гаплотип H2 гена P2Y12 является ФР тромбоза периферических артерий [7]. Полученный нами результат свидетельствует о существенном увеличении риска ТЭЛА как осложнения ТГВ, при наличии генетически обусловленной склонности к АДФ-зависимой гиперактивации тромбоцитов.

В группе «ТГВ + ТЭЛА» было выявлено почти двукратное снижение доли носителей мутации FV Leiden (10,3% против 19,5% среди пациентов с изолированным ТГВ, OR = 0,5, 95% CI: 0,2–0,9; p = 0,029). Подобный феномен нередко отмечался и другими авторами [11, 12], хотя причины его до сих пор остаются неясными. Возможным объяснением более низкой частоты встречаемости аллеля «FV 1691A» у больных ТГВ, перенесших ТЭЛА, являются специфические для этого генетического варианта молекулярные механизмы образования тромба, способствующие его более прочной фиксации на поверхности сосудистой стенки. Иначе говоря, наличие мутации FV Leiden способно, по крайней мере, в определенных случаях, оказывать протективное влияние на риск развития ТЭЛА. При этом обратной стороной «благоприятного» эффекта мутантного аллеля гена

фактора V может быть усиление локальных гиперкоагуляционных процессов, приводящих к повторным эпизодам ТГВ [14]. Интересное предположение относительно причины снижения доли носителей мутации FV Leiden у пациентов с ТГВ, осложненным ТЭЛА, высказали Björgell O. et al. [4]. По их мнению, для носителей этого генетического варианта является нехарактерным развитие тромбоза илеофemorального сегмента, наиболее часто сопровождающегося эмболизацией ветвей легочных артерий. Однако результаты наблюдений пациентов с ВТ в хирургической клинике РосНИИГТ, напротив, свидетельствуют о высокой (более 75%) доле тромбозов проксимальных венозных магистралей у больных с мутацией в гене фактора V [2].

Несмотря на снижение частоты встречаемости варианта FV Leiden в группе «ТГВ + ТЭЛА», были выявлены генетические варианты, сочетание которых с указанной мутацией увеличивает риск развития этого грозного осложнения у пациентов с ТГВ. Одновременное носительство аллеля «MTHFR 677T», а также генотипов «FI-455GA», «FXII 46CT» и «AGT 704TC» наблюдалось почти в 20 раз чаще у больных с FV Leiden из группы «ТГВ + ТЭЛА» (33,3% против 1,7% у носителей данной мутации с изолированным ТГВ, OR = 29,0, 95% CI: 2,9–293,1; p = 0,002) (рис. 1). В то же время при сравнении индивидов с нормальным генотипом фактора V данная комбинация встречалась среди больных, перенесших ТЭЛА, практически с такой же частотой, что и у пациентов с неосложненным ТГВ (4,8% против 3,3%, соответственно, OR = 1,5, 95% CI: 0,5–4,6; p = 0,54). Таким образом, увеличение риска развития ТЭЛА в случае одновременного носительства протромботических вариантов генов MTHFR, ангиотензиногена, факторов I и XII является характерным именно для больных ТГВ с мутацией FV Leiden. В группе «ТГВ + ТЭЛА» обнаружено более чем 10-кратное увеличение частоты встречаемости генотипического сочетания «FV 1691GA/MTHFR 677T(+)/FI-455GA/FXII 46CT/AGT 704TC» (3,4% против 0,3% у пациентов с изолированным ТГВ, OR = 10,7, 95% CI: 1,2–96,7; p = 0,023). Можно сделать предположение, что редкая встречаемость одновременного носительства аллелей «MTHFR 677T», «FI-455A», «FXII 46T» и «AGT 704C» является одним из объяснений более низкой частоты возникновения ТЭЛА у больных ТГВ с вариантом FV Leiden, чем, например, у пациентов с мутацией в гене протромбина.

Доля носителей мутации «FII 20210G/A» была существенно выше в группе «ТГВ + ТЭЛА» (12,0% против 7,3% у лиц с неосложненным ТГВ, OR = 1,7, 95% CI: 0,9–3,5; p = 0,12), однако данное различие не достигало пределов статистической значимости. Тем не менее, анализ «ген-генных взаимодействий» позволил выявить факторы, сочетание с которыми увеличивает риск развития ТЭЛА у больных ТГВ с мутацией в гене протромбина. Среди них — гетерозиготный генотип «P2Y12

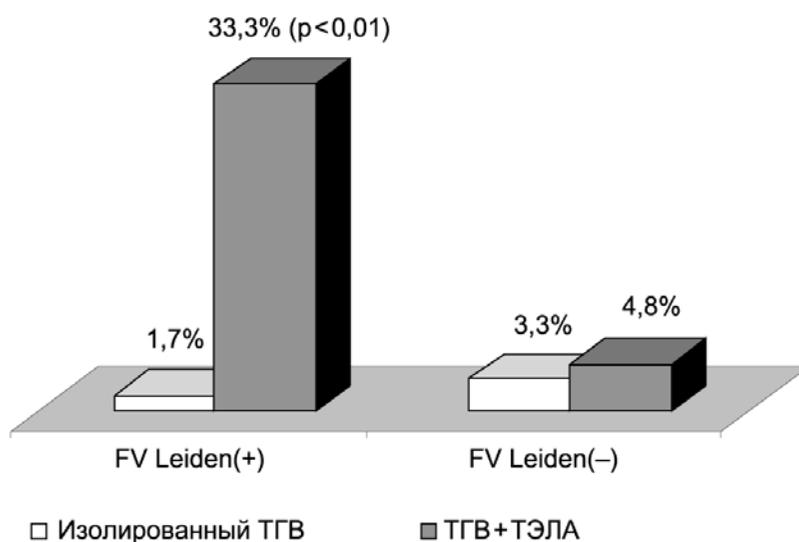


Рис. 1. Частота встречаемости комбинации «MTHFR 677T(+)/FII-455GA / FXII 46CT / AGT 704TC» при различных проявлениях ВТ в зависимости от наличия мутации FV Leiden

Н1/Н2» тромбоцитарного рецептора АДФ, а также носительство аллеля «АроЕ Е4». Сильная положительная ассоциация между носительством мутации в гене фактора II и генотипом «P2Y12 Н1/Н2», обнаруженная в группе «ТГВ+ТЭЛА», обусловила высокую статистическую значимость отличия частоты встречаемости соответствующей межгенной комбинации у этих больных от таковой у лиц с изолированным ТГВ (7,8% против 1,7%, соответственно, OR = 5,0; 95% CI: 1,6–15,3; p = 0,004). Генотип «P2Y12 Н1/Н2» наблюдался у 9/13 (69,2%) пациентов с мутацией в гене протромбина, перенесших ТЭЛА, по сравнению с 5/22 (22,7%) в группе больных с изолированным ТГВНК (OR = 7,7; 95% CI: 1,6–35,8; p = 0,012). В группе «ТГВ+ТЭЛА» также наблюдалась положительная ассоциация между генотипом «FII 20210GA» и носительством аллеля «АроЕ Е4», следствием которой явилось 5-кратное увеличение среди этих больных доли лиц с комбинацией указанных генетических вариантов (5,1% против 1,0% у пациентов с изолированным ТГВНК, OR = 5,5; 95% CI: 1,3–22,0; p = 0,016). Вариант «АроЕ Е4» обнаруживался среди лиц с мутацией «FII 20210G/A» более чем в 3 раза чаще в группе больных, перенесших ТЭЛА, чем у индивидов с неосложненным ТГВ (42,9% против 13,6%, соответственно). Наконец, полученные данные свидетельствовали о кооперативном эффекте аллеля «АроЕ Е4» и генотипа «P2Y12 Н1/Н2» в отношении увеличения риска развития ТЭЛА у больных с мутацией в гене протромбина. Генотипическое сочетание из трех вариантов — генотипов «FII 20210GA», «P2Y12 Н1/Н2» и аллеля «АроЕ Е4», наблюдалось исключительно в группе пациентов, перенесших ТЭЛА (4,3% против 0,0% у лиц с неосложненным ТГВ, OR = 29,7; 95% CI: 1,6–541,4; p = 0,002). Таким образом, можно предположить, что основными факторами риска развития ТЭЛА у больных ТГВ с му-

тацией в гене протромбина являются наличие АроЕ-опосредованных изменений сосудистой стенки, а также генетически обусловленная склонность к АДФ-зависимой гиперактивации тромбоцитов. Вероятно, взаимодействие этих двух фенотипов способствует флотации тромба, сформировавшегося в условиях повышенного уровня фактора II в плазме.

Координированное участие механизмов, вовлеченных в патогенез эндотелиальной дисфункции и активацию тромбоцитарного звена гемостаза, в формировании риска развития ТЭЛА у больных с ТГВ, по-видимому, является характерным не только для случаев носительства мутации в гене протромбина. Подтверждением этому могут служить и другие межгенные комбинации, специфические для подгруппы «ТГВ+ТЭЛА». Сочетание генотипа «MTHFR 677TT», предрасполагающего к повышению уровня гомоцистеина, с носительством аллеля «GrIIIa 1565C» наблюдалось в 5 раз чаще среди пациентов с ТГВ, осложненным ТЭЛА (5,1% против 1,0% у индивидов с изолированным ТГВ, OR = 5,4; 95% CI: 1,3–22,0; p = 0,016). Кроме того, в подгруппе «ТГВ+ТЭЛА» отмечалась сильная положительная ассоциация между генотипом «MTHFR 677TT» и носительством аллеля «АроЕ Е4» (OR = 5,3; 95% CI: 1,7–16,2; p = 0,004). В результате, увеличение у этой части больных частоты встречаемости «тройной» межгенной комбинации, включающей генотип «MTHFR 677TT», а также носительство аллелей «GrIIIa 1565C» и «АроЕ Е4», характеризовалось высоким уровнем статистической значимости (4,3% против 0,3% в группе лиц с изолированным ТГВ, OR = 13,5; 95% CI: 1,6–116,7; p = 0,007). Положительная ассоциация между генотипом «MTHFR 677TT» и носительством аллеля «АроЕ Е4», обнаруженная в группе больных, перенесших ТЭЛА, по всей видимости, отражает важную роль гомоцистеин-опосредо-

ванных процессов перекисного окисления липидов в развитии патологических изменений сосудистой стенки [16, 17].

Особого внимания заслуживает более чем двукратное увеличение в группе «ТГВ + ТЭЛА» доли лиц, являющихся одновременными носителями генотипов «AGT 704TC», «FI -455GA», а также аллелей «PAI-1 -675 4G» и «ACE D» (19,7% против 8,6% среди больных с неосложненным ТГВ, OR = 2,6; 95% CI: 1,4–4,8; p = 0,004). Помимо высокой статистической значимости выявленного различия, эта межгенная комбинация интересна отсутствием в ее составе генетических вариантов, ассоциированных с изменением функциональной активности тромбоцитарного звена гемостаза. Вероятным патогенетическим механизмом ТЭЛА, обусловленным указанным генотипическим сочетанием, является PAI-1-зависимый гипофибринолиз, опосредованный активацией ренин-ангиотензиновой системы (РАС), при одновременном увеличении уровня фактора I в плазме. Нельзя также исключать, что негативный эффект гиперактивации РАС в данном случае связан с ее непосредственным участием в нарушении тромборезистентности сосудистой стенки. Наконец, весьма важным моментом

является довольно высокая распространенность межгенной комбинации «AGT 704TC /FI -455GA /PAI-1 -675 4G(+)/ACE D(+))» среди пациентов с ВТ, что позволяет говорить о несомненной ценности ее выявления в клинической практике для прогнозирования риска развития ТЭЛА у больных с ТГВ.

Таким образом, полученные в ходе проведенного исследования данные свидетельствуют о существенном влиянии генетической вариабельности компонентов, вовлеченных в регуляцию функциональной активности гемостаза, не только на риск развития ВТ, но и на особенности его клинического течения. Расширение спектра анализируемых полиморфизмов ДНК, их комплексная оценка с учетом «ген-генных взаимодействий», выявление наиболее опасных протромботических генотипов и их комбинаций на доклиническом этапе с целью прогнозирования риска развития ТГВ и ТЭЛА могут сыграть решающую роль на пути снижения частоты возникновения ВТ в популяции. Полученные результаты могут служить очередным доказательством перспективности внедрения методов молекулярной диагностики изученных полиморфизмов ДНК в широкую клиническую практику.

Литература

1. Баркаган З. С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий // Проблемы гематологии. — 1996. — № 3. — С. 5–15.
2. Каргин В. Д., Блинов М. Н., Капустин С. И., Папаян Л. П., Шитикова А. С., Салтыкова Н. Б., Белязо О. Е., Головина О. Г., Кацадзе Ю. Л., Кобилянская В. А., Шмелева В. М., Паншина А. М., Тарковская Л. Р. Особенности профилактики и лечения тромбозов при наследственных тромбофилиях: Пособие для врачей. — СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003. — 16 с.
3. Кириенко А. И., Мишнев О. Д., Цициашвили М. Ш., Агафонов В. Ф. Проблема послеоперационных венозных тромбозомболических осложнений в хирургической практике // Ангиология и сосудистая хирургия. — 2003. — Т. 9, № 1. — С. 61–65.
4. Björgell O., Nilsson P. E., Nilsson J. A. et al. Location and extent of deep vein thrombosis in patients with and without FV:R506Q mutation // *Thromb. Haemost.* — 2000. — Vol. 83. — P. 648–651.
5. De Stefano V., Rossi E., Paciaroni K., Leone G. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications // *Haematologica*. — 2002. — Vol. 87. — P. 1095–1108.
6. Fontana P., Dupont A., Gandrille S., Bachelot-Loza C., Reny J. L., Aiach M., Gaussem P. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects // *Circulation*. — 2003. — Vol. 108. — P. 989–995.
7. Fontana P., Gaussem P., Aiach M., Fiessinger J.N., Emmerich J., Reny J. L. P2Y12 H2 haplotype is associated with peripheral artery disease. A case-control study // *Circulation*. — 2003. — Vol. 108. — P. 2971–2973.
8. Gathof B. S., Picker S. M., Rojo J. Epidemiology, etiology and diagnosis of venous thrombosis // *Eur. J. Med. Res.* — 2004. — Vol. 9. — P. 95–103.
9. Heit J. A., Silverstein M. D., Mohr D. N., Petterson T. M., Lohse C. M., O'Fallon W. M., Melton III L. J. The epidemiology of venous thromboembolism in the community // *Thromb. Haemost.* — 2001. — Vol. 86. — P. 452–463.
10. Lane D. A., Grant P. J. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and thrombotic arterial disease // *Blood*. — 2000. — Vol. 95. — P. 1517–1532.
11. Margaglione M., Brancaccio V., De Lucia D. et al. Inherited thrombophilic risk factors and venous thromboembolism: distinct role in peripheral deep venous thrombosis and pulmonary embolism // *Chest*, 2000. — Vol. 118. — P. 1405–1411.
12. Martinelli I., Cattaneo M., Panzeri D. et al. Low prevalence of factor V:Q506 in 41 patients with isolated pulmonary embolism // *Thromb. Haemost.*, 1997. — Vol. 77. — P. 440–443.
13. Miller S. A., Dykes D. D., Polesky H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // *Nucl. Acid. Res.* — 1988. — Vol. 16. — P. 1215–1218.
14. Perrier A. Deep vein thrombosis and pulmonary embolism. A single disease entity with different risk factors? // *Chest*, 2000. — Vol. 118. — P. 1234–1236.
15. Samama M. M., Dahl O. E., Quinlan D. J., Mismetti P., Rosenthal N. Quantification of risk factors for venous thromboembolism: a preliminary study for the development of a risk assessment tool // *Haematologica*, 2003. — Vol. 88. — P. 1410–1421.
16. Smith J. D., Miyata M., Poulin S. E., Neveux L. M., Craig W. Y. The relationship between apolipoprotein E and serum oxidation-related variables is apolipoprotein E phenotype dependent // *Int. J. Clin. Lab. Res.*, 1998. — Vol. 28. — P. 116–121.
17. Voutilainen S., Morrow J. D., Roberts L. J. 2nd, Alfthan G., Alho H., Nyssonen K., Salonen J. T. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999. — Vol. 19. — P. 1263–1266.
18. Zoller B., Garcia de Frutos P., Hillarp A., Dahlback B. Thrombophilia as a multigenic disease // *Haematologica*, 1999. — Vol. 84. — P. 59–70.

РОЛЬ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА В РАЗВИТИИ ДВС-СИНДРОМА И НАРУШЕНИИ СТРУКТУРЫ СЕРДЦА

В. В. АЛЬФОНСОВ, Е. В. АЛЬФОНСОВА, Н. В. БОЧКАРНИКОВА

Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет, г. Чита, Россия

Введение. Проблема тромбозов в артериях, венах, микроциркуляторном русле на сегодняшний день является одной из самых актуальных в современной медицине. Накопленный клинический и экспериментальный материал позволяет рассматривать некомпенсированный ацидоз как один из ведущих патогенетических факторов в развитии острой ишемии миокарда. В то же время влияние метаболического ацидоза и сдвига рН в кислую сторону на морфологию органов и тканей, в том числе и на структурную организацию сердца, остается неизученным.

Целью нашей работы явилось исследование роли лактат-ацидоза в возникновении ДВС-синдрома и нарушений структуры сердца.

Материалы и методы. Было проведено несколько серий опытов на беспородных животных (10 собак, 42 кошки) обоего пола, которые содержались в виварии на стандартном рационе. Метаболический ацидоз вызывали внутривенной инъекцией 3% молочной кислоты в изотоническом растворе NaCl в бедренную вену до уровня рН 7,25–6,5 и продолжительностью до 30–180 мин. Для характеристики системы гемостаза определяли время рекальцификации, протромбиновое, тромбиновое время, содержание фибриногена, ПДФ, фибринолиз, агрегацию и ξ -потенциал тромбоцитов. При изучении сердца использовалась световая и электронная микроскопия. Электронная микроскопия кусочков органов производилась при рН 7,4 (контроль), 7,2 и 7,0 (опыт) через 15–30 мин. после возникновения ацидоза.

Результаты собственных исследований. При рН 7,25–7,1 наблюдается гиперкоагулемия и частичное потребление фибриногена и факторов свертывания крови. Сдвиг рН до 6,8–6,5 сопровождается коагулопатией потребления, значительным снижением уровня фибриногена и резким увеличением продуктов деградации фибрина. По мере развития ацидоза в кровеносном

русле в результате снижения ξ -потенциала форменных элементов появляются агрегаты тромбоцитов и сладжи эритроцитов, которые при некомпенсированном лактат-ацидозе сменяются тромбами и приводят к нарушению микроциркуляции. Сдвиг рН в кислую сторону приводит к деструкции эндотелиоцитов, поступлению в кровотоки органоидов клеток, обладающих, по нашим данным, в основном тромбопластической активностью.

Уже на протяжении первых 15 мин. ацидоза при рН крови 7,2 у многих эндотелиоцитов значительные ультраструктурные изменения претерпевает цитоплазматическая мембрана, изменяется конфигурация клеточной поверхности эндотелиальных клеток капилляров миокарда, возрастает количество микропиноцитозных везикул, которые выходят в просвет капилляров. Сдвиг рН до 7,0 приводит к локальной деструкции плазматической мембраны и выходу органелл в просвет капилляров. Прослеживается отрыв отдельных эндотелиоцитов от базальной мембраны и десквамация эндотелиоцитов. В ядрах эндотелиоцитов наблюдается конгломерация хроматина, кариорексис и кариолизис. В некоторых эндотелиоцитах митохондрии овоидной формы с плотным матриксом и несколько расширенными кристами. Матрикс митохондрий резко просветлен, а кристы оказываются укороченными или полностью редуцированными. При более длительной экспозиции ацидоза наблюдаются явления миоцитолитоза.

Выводы:

1. Ацидоз является мощным возмущающим фактором, способным привести к значительным сдвигам в свертывающей и фибринолитической активности крови, контактирующей с сердцем.

2. Повреждение структуры эндотелия во время гипоксии и ацидоза приводит к выходу тромбопластических соединений из сердца и может быть предпосылкой для развития ДВС-синдрома и тромбообразования.

АНТИФОСФОЛИПИДНЫЙ СИНДРОМ, ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

А. В. АРШИНОВ

Ярославская государственная медицинская академия, г. Ярославль

Антифосфолипидный синдром (АФС) — патологическое состояние, которое стало определяться и привлекать к себе внимание в течение последних двух десятилетий. В 2005 году в Сиднее «Рекомендации по диагностике и лечению АФС», принятые в Саппоро в 1999 году, были подвергнуты коррекции, и в 2006 году

Международным Обществом Тромбоза и Гемостаза (ISTH) были опубликованы новые классификационные критерии антифосфолипидного синдрома. Согласно мнению ISTH, АФС определяется как невоспалительное аутоиммунное заболевание, характеризующееся наличием антифосфолипидных антител у пациентов с

повторными артериальными или венозными тромбозами и повторными осложнениями беременности.

Согласно новым рекомендациям, АФС может быть диагностирован в том случае, когда имеется по меньшей мере один клинический и один лабораторный критерии. В качестве клинических критериев рекомендуются: наличие тромбозирования сосудов и наличие нарушения беременности. В качестве лабораторных критериев АФС предложены: волчаночный антикоагулянт, антикардиолипидные антитела изотипов IgG или IgM и определение антител к β_2 -гликопротеину-I типов IgG или IgM. Наличие АФС не должно диагностироваться в тех случаях, когда временной отрезок между клиническими проявлениями и лабораторными изменениями имеет интервал менее 12 недель или более 5 лет.

В настоящее время мы должны признать, что антитела к фосфолипидам практически не образуются, а обсуждаемые антитела к кардиолипину как основному маркеру данного феномена направлены не против фосфолипида, но против белков, с ним соединенных. Имеющиеся данные позволяют говорить о том, что тромбофилический феномен, который мы, по-видимому,

будем продолжать по инерции называть антифосфолипидным синдромом, подтверждается только выявлением антител к эпитопу Gly40-Arg43 домена I β_2 -гликопротеина-I. Все остальные лабораторные тесты, в том числе определение волчаночного антикоагулянта, следует считать лишь вероятными подтверждениями наличия АФС.

Вопрос о лечении больных АФС в настоящее время находится в состоянии активного изучения. Лечение тромбозов у пациентов АФС аналогично таковому у пациентов с тромбозами без выявления антифосфолипидных антител. Оно включает применение следующих антикоагулянтов: нефракционированного и низкомолекулярного гепаринов, оральных антикоагулянтов-антагонистов витамина К. При этом наиболее удобным, золотым стандартом данной терапии считается варфарин. Кроме этого широкое применение в лечении больных АФС нашли антиагреганты, а именно — ацетилсалициловая кислота. Однако, к сожалению, общепринятые стандарты лечения АФС в настоящее время еще не разработаны и нуждаются в дальнейшем совершенствовании.

РАЗРАБОТКА НОВОГО КОАГУЛЯЦИОННОГО АЛГОРИТМА ДИАГНОСТИКИ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА

З. С. БАРКАГАН, А. П. МОМОТ, Г. В. СЕРДЮК, А. П. ЦЫВКИНА

Алтайский филиал гематологического научного центра РАМН, г. Барнаул

Введение

В соответствии с рекомендациями Международного комитета по тромбозам и гемостазу (1995), как известно, используется трехэтапный алгоритм лабораторной диагностики антифосфолипидного синдрома (АФС) по выявлению волчаночного антикоагулянта (ВА). В этих рекомендациях фигурирует лишь одна пара взаимодополняющих тестов — скрининговая с ядом гадюки Расселла (ВА-чувствительная проба) и противовесная (коррекционная), также с ядом гадюки Расселла, но с компенсирующими фосфолипидами. Другие фосфолипид-чувствительные тесты (АПТВ и с тромбопластиновым реагентом) применяются без их противовесных (фосфолипид-нечувствительных) аналогов, что делает всю методику выявления ВА, по длительному опыту ее применения в диагностической практике, достаточно трудоемкой и длительной.

В нашем центре были разработаны и апробированы новые противовесные (коррекционные) АПТВ и тромбопластиновые реагенты, а также реагенты с коагулазой гюрзы среднеазиатской, обладающие высокой и низкой чувствительностью к эффектам ВА.

Предложенный авторами диагностический подход с применением трех пар взаимодополняющих тестов изучался на плазме больных с верифицированным АФС.

Цель данной предварительной публикации заключается в демонстрации возможностей данной разработки.

Материалы и методы

Исследования проводили на бедной тромбоцитами плазме 20 больных (средний возраст $26,7 \pm 2,6$ лет) с установленным по международным критериям диагнозом АФС. У 9 из этих пациентов регистрировались тромбозы магистральных сосудов, у 11 — упорное невынашивание беременности. Группу сравнения составили 24 пациента с другими формами гематогенной тромбофилии (средний возраст — $39,5 \pm 2,9$ лет). Из них у 13 больных в анамнезе были выявлены тромбозы кровеносных сосудов и у 11 — повторные потери плода. Контрольную группу составили 50 здоровых людей (средний возраст $37,3 \pm 2,8$ лет) без АФА в плазме крови.

Реагенты

1. Наборы реагентов, содержащие коагулазы змеиных ядов: гадюки Расселла в составе набора «IL Test LAC Screen» (Instrumentation Laboratory), «Лебетокс» (коагулаза яда гюрзы среднеазиатской) в двух вариантах — с высоким и низким содержанием компенсирующих фосфолипидов (соответственно Лебетокс_{ВА-} и Лебетокс_{ВА+}), фирмы «Технология-Стандарт» (Барнаул).

2. АПТВ-реагенты: «Platelin LS» фирмы «Organon Teknika», «РТТ-LA» фирмы «Roche Diagnostics»,

Результаты применения скрининговых и противовесных (коррекционных) тестов в диагностике ВА ($X \pm m$)

Тесты	Контрольная группа (n = 50)			Больные с наличием ВА (n = 20)	Больные с отсутствием ВА (n = 24)
	X	m	1,5 ± SD		
	NR _{АПТВ}	1,05	0,04		
NR _{Техпластин}	1,01	0,03	0,86–1,16	1,56 ± 0,04*	1,08 ± 0,02**
NR _{Лебетокс}	0,96	0,02	0,84–1,08	1,65 ± 0,23*	0,91 ± 0,13**

Примечание: * – $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем;
** – $p > 0,5$ – значения, достоверно не отличающиеся от контроля.

«Экспресс-Люпус-тест» фирмы «Технология-Стандарт» с использованием АПТВ-реагентов с высоким и низким содержанием фосфолипидов (соответственно АПТВ_{ВА-} и АПТВ_{ВА+}).

3. Тромбопластиновые реагенты: «Thromborel» фирмы «Dade Bering», «Dia Platin» фирмы «DiaMed», «Техпластин» и тромбопластин модифицированный (соответственно Техпластин_{ВА-} и Техпластин_{ВА+}) фирмы «Технология-Стандарт».

Исследования проводились на коагулометре «Coag-A-Mate» с оптическим принципом регистрации результатов.

Результаты

По результатам времени свертывания в каждой паре скрининговых и противовесных (коррекционных) тестов рассчитывали нормализованное отношение (NR), которое вычисляли по формулам:

$$R_1 = \frac{t_1}{t_2}; \quad R_2 = \frac{t_3}{t_4}; \quad NR = \frac{R_1}{R_2},$$

где:

t_1 – время свертывания плазмы больного с реагентом АПТВ_{ВА+};

t_2 – время свертывания контрольной нормальной плазмы с реагентом АПТВ_{ВА+};

t_3 – время свертывания плазмы больного с реагентом АПТВ_{ВА-};

t_4 – время свертывания контрольной нормальной плазмы с реагентом АПТВ_{ВА-};

R_1 – показатель удлинения времени свертывания у больного, в сравнении с контролем, в тесте с АПТВ_{ВА+}-реагентом;

R_2 – показатель удлинения времени свертывания у больного, в сравнении с контролем, в тесте с АПТВ_{ВА-}-реагентом;

NR – отношение, которое количественно оценивает гипокоагуляционный эффект ВА.

Аналогичным образом рассчитывали NR на парных тестах с разведенным ядом гюрзы и с разведенным тромбопластином.

Полученные результаты приведены в таблице 1.

Положительным результатом при выявлении ВА считали повышение NR от верхнего предела нормальных значений в двух и более взаимодополняющих тестах.

Далее (в табл. 2) приводим аналитические характеристики предлагаемых тестов для выявления эффектов ВА.

Таблица 2

Аналитические характеристики скрининговых (ВА+) и противовесных (ВА-) тестов в распознавании ВА

Тесты	Чувствительность теста, %	Специфичность теста, %
АПТВ _{ВА+}	75	68
АПТВ _{ВА-}	15	7
Техпластин _{ВА+}	85	63
Техпластин _{ВА-}	10	5
Лебетокс _{ВА+}	95	76
Лебетокс _{ВА-}	10	5

Выводы

Данные наших предварительных исследований показывают высокую информативность предлагаемого комплекса скрининговых (фосфолипид-чувствительных) и противовесных (коррекционных) фосфолипид-нечувствительных тестов для распознавания эффектов ВА, позволяют упростить многоэтапность диагностики и сделать этот вид лабораторной диагностики более доступным для широкой сети клиничко-диагностических лабораторий, в том числе за счет использования отечественных реагентов.

СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У ФИЗИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЛИЦ

О. Л. БОРИСОВА, А. Д. ВИКУЛОВ, А. А. БАРАНОВ, Н. А. ЛАПКИНА

Государственная медицинская академия, г. Ярославль

Ярославский государственный педагогический университет им. К. Д. Ушинского, г. Ярославль

Введение. Проблема адаптации организма человека к различным видам физических нагрузок является одной из актуальных в биологии и спортивной медицине. В настоящее время известно, что эндотелий сосудов принимает важное участие в регуляции гемореологических функций организма. Физические нагрузки могут оказывать реактивное влияние на сосудистую стенку.

Материалы и методы. Исследовано 39 спортсменов разных видов спорта в возрасте от 18 до 23 лет. Спортивная квалификация — от первого разряда до мастера спорта. Контрольную группу составили лица, не занимающиеся систематическими физическими нагрузками сопоставимые по полу и возрасту. В качестве лабораторных маркеров активации эндотелия исследовали концентрации в сыворотке крови растворимой формы VCAM-1 (pVCAM-1) и антигена фактора фон Виллебранда (ФВ: Аг) твердофазным иммунофермент-

ным методом. Лабораторные исследования проводились в состоянии относительного покоя, время с момента последней тренировочной нагрузки составляло 24 часа.

Результаты. Концентрация pVCAM-1 у физически активных лиц варьировала от 640,5 до 9432,0 нмоль/л и составила 1207,0 [1027,0; 1522,0] нмоль/л, что достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$). У 8 (20,5%) спортсменов уровень pVCAM-1 превышал верхнюю границу нормы (1556,0 нмоль/л).

Не отмечено значимых различий концентрации ФВ: Аг у физически активных лиц и группы доноров 0,89 [0,48; 1,38] Ме/мл и 1,01 [0,56; 1,43] Ме/мл соответственно ($p > 0,05$).

Выводы. Систематические физические нагрузки вызывают активацию эндотелиальных клеток, сопровождающуюся повышением концентрации pVCAM-1.

ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ К АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ

А. И. БУРЯЧКОВСКАЯ, И. А. УЧИТЕЛЬ, А. Б. СУМАРОКОВ, Е. Г. ПОПОВ

Российский Кардиологический научно-производственный комплекс Росздрава

Введение. За последние десятилетия появилось значительное количество лекарственных средств, обладающих дезагрегантным эффектом и направленных на снижение функциональной активности тромбоцитов. Их восприимчивость к препаратам этого ряда зависит от большого количества факторов, влияющих на способность тромбоцитов участвовать в различных реакциях. Кроме состояния сосудистой стенки, гетерогенности популяции самих кровяных пластинок и полиморфизма их рецепторов, важную роль играют образующиеся связи их с лейкоцитами и эритроцитами.

Методы. У 62 пациентов с ИБС, 20 больных ИБС с депрессивными расстройствами и 18 здоровых добровольцев изучали форму тромбоцитов и количество циркулирующих в крови лейкоцитарно-тромбоцитарных (ЛТА) и эритроцитарно-тромбоцитарных агрегатов (ЭТА) с помощью сканирующей электронной микроскопии. Спонтанную и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов исследовали на лазерном агрегометре ООО «Биола». Средний объем тромбоцитов (СОТ) оценивали с помощью тромбоцитокрита. Исследование проводили до и на фоне приема препаратов с антитромбоцитарным эффектом.

Результаты. При ИБС, когда наиболее выражено участие тромбоцитов в атеротромбозе, наблюдается

сочетание появления в крови «больших тромбоцитов» ($3,1 \pm 0,8\%$), свидетельствующее об изменении мегакариопоэза, и увеличения количества активированных сферических форм (до $41,4 \pm 3,9\%$) за счет одновременного снижения содержания дисковидных. Появление «больших тромбоцитов», которые обладают высоким гемостатическим потенциалом, характерно для больных с атеросклерозом. Повышается СОТ ($12,6 \pm 2,7$ фл.) и агрегационный ответ на низкие дозы АДФ. В крови 28% больных циркулируют ЭТА, а у 32% пациентов обнаружены ЛТА. Такая картина связана с высоким риском тромботических осложнений. Однако повышенная активность тромбоцитов наблюдается не у всех больных ИБС. У 26 из 82 пациентов (32%) все показатели сохраняются в пределах нормальных величин. У больных с высоким содержанием больших тромбоцитов ЛТА и ЭТА эффективность дезагрегантной терапии снижена. При осложнении ИБС депрессивными расстройствами картина резко усугубляется. У всех больных циркулируют ЛТА и повышена спонтанная агрегация тромбоцитов даже на фоне приема дезагрегантов.

Заключение. Присутствие в крови «больших тромбоцитов», ЭТА, ЛТА и уменьшение резистентности эритроцитов оказывают существенное влияние на снижение чувствительности тромбоцитов к действию дезагрегантов.

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ А, Е, С И Р НА УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТРОМБИН—ФИБРИНОГЕН, ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ТРОМБИНУ И ЛИПИДПЕРОКСИДАЦИЮ

А. Ш. БЫШЕВСКИЙ, С. А. ГАЛЯН, С. В. МИНЕВЦЕВ, А. В. ПУСТЫННИКОВ,
А. Ю. РУДЗЕВИЧ, Г. А. СУЛКАРНАЕВА, П. Я. ШАПОВАЛОВ, Е. М. ШАПОВАЛОВА, А. В. ШИДИН
ГОУ ВПО ТюмГМА Росздрава

О влиянии витаминов на гемостаз обычно судят по изменению уровня отдельных плазмокоагулянтов в кровотоке, что дает представление о том, как они изменяют способность организма реагировать на ускорение тромбообразования при экстремальных воздействиях [А. Ш. Бышевский, 1978, В. П. Мищенко и др., 2005].

В опытах на белых крысах (1890) и морских свинках (515), не синтезирующих витамина С, мы изучали влияние витаминов А, Е, С и Р порознь и в сочетаниях на липидпероксидацию (ЛПО), уровень маркеров взаимодействия тромбин—фибриноген (ВТФ) и толерантность к тромбину (ТкТ) в норме и на фоне гипероксидации. ВТФ оценивали по уровню в плазме фф. Р₃ и Р₄, ПДФ, РКМФ, D-димеров [В. П. Балуда и др., 1980; З. С. Баркаган и др., 1998], ЛПО — по уровню первичных и вторичных липидпероксидов, периоду индукции и скорости индуцированного окисления в тромбоцитах [В. Н. Ушкалова и др., 1987], ТкТ — согласно патенту [А. Ш. Бышевский и др., 2001]. Гипероксидацию вызывали введением ацетата свинца, или тирозина, гипоксидацию — введением димефосфона [А. Ш. Бышевский и др., 2004–2007]. Математический анализ полученных данных (статистическая обработка для малых рядов наблюдений, метод альтернативного варьирования), графический анализ в системе Microsoft Graf (приложение MS Word 98) позволил установить следующее:

— витамины А, Е, С и Р в небольшой мере ограничивают интенсивность ВТФ и заметно повышают толерантность организма к тромбину; в комбинациях по два наиболее активны сочетание Е + А, а также сочетания витамина Е или А с витаминами С или Р. Витамины С и Р, будучи примерно одинаково активны порознь, в равной степени усиливают эффект витаминов Е или А, сочетаясь с ними;

— витаминноминеральные комплексы компливит и селмевит заметнее ограничивают интенсивность непре-

рывного внутрисосудистого свертывания крови и повышают толерантность к тромбину в физиологических условиях содержания животных, особенно селмевит, содержащий наряду с другими, свойственными компливиту компонентами, селен — кофактор антиоксидантных энзимов;

— эффект витаминов А, Е, С, Р и их сочетаний на непрерывное внутрисосудистое свертывание крови, контролируемое по уровню маркеров ВТФ, и на толерантность к тромбину пропорционален их способности ограничивать ЛПО и повышать антиоксидантный потенциал в тромбоцитах;

— те же витамины при введении порознь или в сочетаниях одновременно с прооксидантом (свинцом или тирозином) ограничивают ускорение ЛПО, снижение антиоксидантного потенциала, скорость ВТФ и ТкТ заметнее, располагаясь по выраженности эффекта витамина так:

Е > А > С > Р;

в сочетаниях по два суммация эффекта витаминов не является полной, наиболее эффективны сочетания, включающие витамины Е + А, затем Е + С или Е + Р и сочетание А + С или А + Р, в сочетаниях по четыре или по три ранжировка витаминов по эффективности такова:

Е + А + С + Р > Е + А + С = Е + А + Р > А + С + Р.

Эти данные подтверждают выдвинутое ранее предположение о наличии прямой зависимости между ЛПО и гемостазом, и обратной — между антиоксидантным потенциалом и гемостазом, реализующейся через тромбоциты. Прикладное значение полученных данных заключено в том, что установлена целесообразность использования изучавшихся витаминов в сочетаниях как средств коррекции нарушений гемостаза, сопровождающих оксидативный стресс, который сопровождается многие патологические состояния.

ПОКАЗАТЕЛИ ТРОМБОЭЛАСТОМЕТРИИ У ПАЦИЕНТОВ, ПРИНИМАЮЩИХ ДЕЗАГРЕГАНТЫ

Н. В. ВЛАСОВА, А. А. СОКОЛОВА, Т. А. ВОРОБЬЕВА
ООО «Урал-Лазер» МЦ «Уральский», УГМА г. Екатеринбург, Россия

Метод тромбоэластометрии (ТЭМ) является интегральным методом оценки гемостаза, проводится в цельной крови, что позволяет оценить взаимодействие всех компонентов свертывающей, противосвертывающей и

фибринолитической систем, включая воздействие тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов. При сердечно-сосудистой патологии в кардиологии, неврологии, сердечно-сосудистой хирургии, ангиологии широко применя-

ются дезагреганты с целью лечения и профилактики различных заболеваний.

Целью данной работы явилось оценить показатели тромбоэластометрии (ТЭМ) у больных, принимающих дезагреганты.

Материалы и методы. Обследовано 110 пациентов с диагнозом ЦВБ в разные периоды течения ишемического инсульта, а также больные со стенозами мозговых артерий на фоне атеросклероза. Средний возраст больных составил 57,9 лет, мужчин — 62, женщин — 48.

Все больные принимали препараты группы ацетилсалициловой кислоты в дозе от 50 до 150 мг в сутки, длительность приема составляла от 7 дней до 5 лет.

Тромбоэластометрия проводилась на тромбоэластографе ROTEM Gamma (Pentapharm, Германия). Оценивались следующие показатели тромбоэластометрии: r — время сгущения, k — время образования сгустка, MA — максимальная твердость сгустка.

Контрольную группу составили практически здоровые доноры (25 человек).

Результаты. По показателям тромбоэластометрии все обследованные распределились на 3 группы: нормокоагуляция — 78,2%, гиперкоагуляция — 12,7% и гипокоагуляция — 9,1%.

При проведении скрининговых тестов в группе больных с гиперкоагуляцией у 3 пациентов обнаружено

укорочение АЧТВ, еще у 3 — повышение активности протромбина по Квику, у 8 пациентов — повышение уровня фибриногена. У 2 пациентов гиперкоагуляция определялась на фоне снижения активности по Квику, у 3 пациентов — на фоне нормальных показателей коагуляционных тестов.

Из 10 больных с гипокоагуляцией у 2 выявлено незначительное снижение активности протромбина по Квику, у 2 человек — повышен уровень фибриногена.

В группе пациентов с нормокоагуляцией изменения АЧТВ и активности по Квику не выявлено, а повышенный уровень фибриногена обнаружен у 28 человек.

Прокоагулянтная активность тромбоцитов (ПАТ) в группе больных с гиперкоагуляцией оставалась в пределах нормы, а в 4 случаях имело место ее снижение. У пациентов с гипокоагуляцией крови снижение ПАТ определялось в 2 случаях, в остальных показатель был в пределах нормы.

Заключение. При обследовании больных, принимающих дезагреганты, тромбоэластометрия позволяет выявить пациентов с явлениями гипер- или гипокоагуляции, что требует проведения своевременной коррекции терапии путем перехода на комбинированную или альтернативную терапию. Внедрение тромбоэластометрии в клиническую практику позволит улучшить качество и безопасность антитромботической терапии.

Таблица 1

Показатели ТЭМ и скрининговых тестов у пациентов, принимающих дезагреганты

Показатель	Контроль, n = 25	Больные, принимающие дезагреганты		
		Нормокоагуляция, n = 86	Гипокоагуляция, n = 10	Гиперкоагуляция, n = 14
R, сек.	508–890	717 ± 100	964 ± 70,3	478 ± 97,8
K, сек.	137–359	230 ± 58,9	343 ± 111,1	124 ± 33,4
МА, мм	44–61	52 ± 5,6	45,6 ± 8,3	62 ± 5,7
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	120–380	247 ± 60	215 ± 74	279 ± 91
ПАТ, %	39–56	42 ± 9	42 ± 11,5	37 ± 11,5
Активность протромбина по Квику, %	85–130	105,2 ± 13,9	102,3 ± 14,2	104 ± 22,1
АЧТВ, сек.	26–36	31,26 ± 3,34	31,8 ± 3,47	29,7 ± 4,3
Фибриноген, г/л	1,8–4,0	3,99 ± 1,11	3,56 ± 1,01	4,94 ± 1,48

ОСОБЕННОСТИ ФИЗИЧЕСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

А. И. ГАЕВСКАЯ, Н. Н. БУРОВА, Г. А. БЕЛЕХОВ, А. Э. КУТУЗОВА

ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова Росздрава

Целесообразность физической реабилитации больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) в настоящее время не вызывает сомнения, однако сроки активизации пациентов зависят от целого ряда факторов, оценка которых и стала целью настоящего исследования.

Материалы и методы

В исследование включены 35 больных, находившихся в отделении реанимации и интенсивной терапии Федерального центра им. В. А. Алмазова по поводу острого коронарного синдрома. Средний возраст пациентов составил 65 ± 2 года, все они страдали ишемической болезнью сердца, артериальная гипертензия регистрировалась в 40% случаев, Q-инфаркт отмечался у 51%, ОИМ без Q — у 31%, нестабильная стенокардия — у 18% больных. Функциональный класс тяжести ОИМ в соответствии с классификацией Д. М. Аронова—Л. Ф. Николаевой составил III–IV.

Результаты

После стабилизации состояния (в среднем, на 5 ± 1 сутки) больные вовлекались в программу занятий по лечебной физкультуре (ЛФК). За время пребывания в отделении интенсивной терапии пациенты, в среднем,

успевали освоить до 2 занятий (двигательный режим 1, комплекс упражнений № 1–2). В случае если физическая активизация начиналась не ранее 5 суток заболевания, у пациентов регистрировалась склонность к тахикардии, а частота сердечных сокращений в покое была выше, чем у больных, занимавшихся ЛФК на 1–2 сутки ОИМ (81 ± 2 уд./мин. против 69 ± 3 уд./мин., соответственно, $p < 0,01$). Основной причиной увеличения сроков физической активизации пациентов с ОИМ стала тяжесть поражения сердечной мышцы. Так, среди пациентов, начинавших занятия ЛФК после 3 суток, преобладали больные с Q-инфарктом (71% случаев), ИМ в анамнезе (72% случаев), осложнениями острого периода заболевания (50% случаев, из них, преимущественно: нарушения ритма, постинфарктная стенокардия, эпизоды острой левожелудочковой недостаточности).

Выводы

Основной причиной замедления начала физической реабилитации больных с ОИМ является тяжесть поражения миокарда и выраженность осложнений острого периода заболевания.

АМИНОКИСЛОТА ГЛИЦИН И LYS-PRO-ARG-GLY: ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ НА ФИБРИНОЛИТИЧЕСКУЮ И АНТИКОАГУЛЯНТНУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ

М. Е. ГРИГОРЬЕВА, Т. Ю. ОБЕРГАН

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Лаборатория защитных систем крови им. проф. Б. А. Кудряшова

Известно, что эффекты коротких пролинсодержащих пептидов направлены на ингибирование свертывания крови. Они обладают фибринолитической, фибрин-деполимеризационной, антикоагулянтной и анти-тромбоцитарной активностью. Кроме того, ранее было показано, что глицин может проявлять себя как фибринолитический агент, увеличивая ферментативную фибринолитическую активность крови за счет повышения активности активатора плазминогена.

Глицин — заменимая аминокислота, которая имеет во всех клетках организма. Являясь метаболитом широкого спектра действия и естественным тормозным медиатором, глицин осуществляет свое влияние через глицинэргические рецепторы.

Целью данного исследования являлось изучение влияния аминокислоты глицин и пептида Lys-Pro-Arg-

Gly на антикоагулянтно-фибринолитические свойства плазмы крови крыс в норме и при блокаде глициновых рецепторов стрихнином для выявления возможного участия этих рецепторов в реализации эффектов исследуемых препаратов.

Для оценки состояния системы гемостаза использовали стандартные коагулологические методы: определяли антикоагулянтную активность по тесту АЧТВ, суммарную и неферментативную активность плазмы крови, ферментативную активность, активность активаторов плазминогена и время лизиса эуглобулиновой фракции плазмы и активность фактора XIIIa. При внутривенном введении здоровым крысам глицина (500 мкг/кг) или Lys-Pro-Arg-Gly (200 мкг/кг) было показано повышение фибринолитической (по всем показателям, характеризующим состояние системы

фибринолиза) и антикоагулянтной активностей крови и снижение активности фактора XIII_a. На фоне предварительной блокады глициновых рецепторов стрихнином (15 мкг/кг) введение глицина и Lys-Pro-Arg-Gly привело только к увеличению фибринолитической активности плазмы крови (как ферментативной, так и неферментативной природы), тогда как антикоагулянтная активность по тесту АЧТВ и активность фактора XIII_a не изменялись по сравнению с контрольной группой крыс. Таким образом, при предварительной блокаде

глициновых рецепторов стрихнином глицин и Lys-Pro-Arg-Gly сохраняют свое влияние только на изменение показателей системы фибринолиза.

На основании проведенного исследования можно сделать вывод о том, что глициновые рецепторы участвуют в реализации антикоагулянтной и антифибриностабилизирующей активности глицина и глицинсодержащего пептида Lys-Pro-Arg-Gly и не задействованы в проявлении фибринолитических эффектов этих препаратов.

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ НА ФОНЕ ТРАНЗИТОРНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

А. А. ГУРЖИЙ

ФГУ Российский НИИ Гематологии и Трансфузиологии Росздрава,
Санкт-Петербург, Россия

Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) является признанным фактором риска развития артериальных и венозных тромбозов и раннего атеросклероза. Одно из патологических действий ГГЦ — образование избытка перекиси водорода, инактивацию которой в организме в частности обеспечивает каталаза (КАТ). Но роль КАТ при ГГЦ изучена мало.

Цель работы: изучить изменение активности КАТ при хронической и транзиторной ГГЦ, возникающей в ходе проведения метионинового нагрузочного теста.

Материалы и методы: обследовано 50 здоровых лиц (контрольная группа) и 50 пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей (ОАСНК). У 25 пациентов была выявлена базальная ГГЦ. У 25 пациентов базальный уровень ГГЦ был в пределах нормы (<13,5 мкмоль). Этим пациентам для индукции транзиторной ГГЦ проводился метиониновый нагрузочный тест (МНТ). Применялся метионин в таблетках в дозе 0,1 мг/кг массы тела. Активность КАТ определяли спектрофотометрическим методом. Уровни

ГГЦ определяли методом жидкостной хроматографии под высоким давлением (ЖХВД). Уровни ГГЦ и КАТ измерялись натощак, а затем через 4 и 24 часа после метиониновой нагрузки.

Результаты: активность КАТ у больных с ОАСНК с нормальным исходным уровнем ГГЦ составила — $2,8 \pm 0,3$ у. е. акт., у больных с выраженной ГГЦ (>25 мкмоль/л) — $4,7 \pm 1,1$ у. е. акт. Оба значения достоверно отличаются от значений в контрольной группе — $1,9 \pm 0,2$ у. е. акт. ($p < 0,01$). В ходе проведения МНТ показатели ГГЦ и КАТ измерялись натощак, через 4 и 24 часа. Были получены следующие результаты: уровень ГГЦ — $9,7 \pm 2,8$ мкмоль/л — $29,5 \pm 6,7$ мкмоль/л — $17,6 \pm 7,4$ мкмоль/л; активность КАТ — $2,75 \pm 0,25$ у. е. акт. — $2,6 \pm 0,3$ у. е. акт. — $2,9 \pm 0,2$ у. е. акт. соответственно.

Выводы: транзиторная ГГЦ не вызывает достоверных изменений активности каталазы у больных с ОАСНК. Достоверное повышение активности КАТ происходит при хронической ГГЦ.

ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ ТЕРАПИИ АНТАГОНИСТАМИ ВИТАМИНА К: ДОСТИЖЕНИЯ И НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ

А. Б. ДОБРОВОЛЬСКИЙ, Е. В. ТИТАЕВА, А. Н. СТОРОЖИЛОВА, И. Н. КАРИНОВА
НИИ кардиологии им. А. Л. Мясникова РКНПК Росздрава, Москва, Россия

История применения антагонистов витамина К (АВК) для профилактики венозных и артериальных тромбозов насчитывает более 50 лет. Многочисленные сравнительные и проспективные исследования, выполненные в 80–90-х годах XX века, подтвердили их эффективность и относительную безопасность при условии

индивидуального подбора дозы. Необходимость последнего обусловлена узким терапевтическим диапазоном АВК при том, что индивидуальная чувствительность больных к препаратам значительно варьирует, а сопутствующая терапия и характер питания могут как потенцировать, так и снижать влияние АВК на систему свер-

тывания крови. Основным методом контроля терапии АВК является регулярное выполнение протромбинового теста с представлением результата в виде Международного нормализованного отношения (МНО). Прошло уже 25 лет, как ВОЗ по предложению Международного общества по тромбозам и гемостазу рекомендовала использование системы МНО для контроля терапии АВК, но по данным ФСВОК на 2006 г. лишь 62% лабораторий наших клиник вычисляют МНО. Причем, если в период с 2001 по 2005 гг. их число постепенно увеличивалось с 20 до 62%, то за последний год оно практически не изменилось. Одной из причин этого является исторически сложившаяся традиция — выполнять протромбиновый тест с использованием капиллярной крови. Это возможно, но требует применения специального комбинированного тромбопластина, который позволяет выполнять тест с использованием всего 10–20 мкл капиллярной крови или приборов для самоконтроля МНО.

В ряде исследований было показано, что суммарная частота осложнений (тромбоэмболии + кровотечения)

зависит от стабильности уровня антикоагуляции в период лечения. Это привело к введению такого показателя качества терапии, как «время в терапевтической области» (TTR — англ.), которое вычисляется как процент дней в терапевтической области на основании графика: МНО — дни лечения, на котором данные смежных анализов соединяются прямой линией. Качество терапии считается удовлетворительным, если TTR > 70%. Как правило, чем чаще определяется МНО, тем более высокого уровня TTR удастся достичь.

Актуальной проблемой остается поиск коагулологических факторов риска повторных тромбозов и определение оптимальной длительности терапии АВК после первого эпизода ВТЭ. Из исследованных показателей наиболее важным предиктором представляется уровень Д-димера после окончания терапии. В ряде исследований показано, что у больных с идиопатическими тромбозами уровень Д-димера после окончания курса терапии является более значимым предиктором ретромбоза, чем наследственная тромбофилия.

Д-ДИМЕР У БОЛЬНЫХ АТЕРОТРОМБОЗОМ: СВЯЗЬ С ТЕЧЕНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

А. Б. ДОБРОВОЛЬСКИЙ, Ю. А. ФЕДОТКИНА, А. Л. КОМАРОВ, Е. А. ЕГОРОВА,
Е. В. РЯБИШ, М. В. ВИЦЕНЯ, Е. В. ТИТАЕВА, А. Н. СТОРОЖИЛОВА,
И. И. СТАРОВЕРОВ, Е. П. ПАНЧЕНКО

НИИ кардиологии им. А. Л. Мясникова РКНПК Росздрава, Москва, Россия

Д-димер является маркером образования и расщепления фибрина, повышение его концентрации свидетельствует об активации тромбообразования.

Цель исследования: оценить уровень Д-димера у больных с различными проявлениями атеротромбоза.

Материалы и методы: в исследование включено 459 пациентов. Группу 1 составили 211 больных со стабильной стенокардией напряжения, группу 2 — 125 больных острым коронарным синдромом (ОКС) (без и с подъемом сегмента ST на ЭКГ), группу 3 — 123 больных с мультифокальным атеросклерозом (МФА) и перемежающейся хромотой. Уровень Д-димера определяли иммуноферментным методом с помощью наборов «Asserachrom D-Di» производства «Diagnostica Stago». У больных с ОКС уровень Д-димера определяли в момент поступления в блок интенсивной терапии, после окончания курса терапии гепаринами и перед выпиской.

Результаты. При поступлении уровень Д-димера у больных ОКС был значительно выше, чем у больных

со стабильной стенокардией ($730 \pm 628,0$ vs. $347 \pm 334,5$ нг/мл, $p < 0,0001$) и больных с МФА ($565 \pm 629,0$ нг/мл, $p_{2-3} < 0,0006$). У больных МФА Д-димер был также выше, чем у больных стабильной стенокардией ($p_{1-3} < 0,0006$). В подгруппе больных ОКС без подъема сегмента ST достоверных изменений средних значений Д-димера к концу курса терапии гепаринами не выявлено, в подгруппе с подъемом сегмента ST отмечалось значительное ($p < 0,005$) повышение Д-димера на 3 сутки от начала заболевания и снижение до исходного уровня перед выпиской. Анализ связи Д-димера с другими факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний выявил положительную корреляцию с возрастом только у стабильных больных в группах 1 и 3 ($p < 0,01$, $r = 0,6$).

Выводы. Результаты нашего исследования указывают, что у стабильных больных уровень Д-димера ассоциируется с протяженностью атеросклеротического поражения, а у больных ОКС его основным источником является активация свертывания в области поражения коронарных артерий.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ИБС У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ

В. В. ДОРОФЕЙКОВ, В. И. ИВАНОВ, А. В. ВАВИЛОВА, Э. В. КУЛЕШОВА

ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург

Терапия дезагрегантами является одним из основных методов профилактики сердечно-сосудистых событий. Наиболее широко используемым препаратом является ацетилсалициловая кислота (АСК) в дозах от 75–125 мг. По разным данным, у 40–60% пациентов с цереброваскулярными и сердечно-сосудистыми заболеваниями АСК не оказывает профилактического анти-тромботического эффекта, даже при продолжительном и регулярном приеме препарата в стандартных терапевтических дозах. Важной проблемой антитромботической профилактики является снижение чувствительности к АСК, встречающееся, по данным различных авторов, в 5–45% случаев.

Целью настоящего исследования была оценка чувствительности к АСК у больных ИБС и анализ связи перенесенных сердечно-сосудистых эпизодов с приемом АСК.

Материал и методы. Было обследовано 26 больных ИБС, получающих АСК в течение 2 мес. — 19 лет. Возраст пациентов составил 41–71 год (медиана — 58 лет). 18 пациентов (69%) принимали АСК регулярно, 8 (31%) — периодическими курсами. Средняя доза препарата составляла 100 мг (50–125 мг). Контрольную группу составили 24 здоровых донора, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемой группой и исходно не принимавших АСК.

Ингибирующую способность АСК определяли *ex vivo* в цельной крови по оригинальной методике. Осуществляли тестирование агрегационной активности тромбоцитов, стимулированной АДФ в конечной концентрации 5,0 мкмоль/л, до и после инкубирования крови с АСК. По полученным результатам рассчитывалась степень подавления амплитуды индуцированной агрегации в процентах. Дозу АСК подобрали по конт-

рольной группе (n = 24) здоровых доноров из условия ингибирования агрегации примерно в 2 раза. Исследования проводили на отечественном импедансном агрегометре АИ-300 (Санкт-Петербург) с соблюдением всех стандартных условий, необходимых для оптимальной реализации тромбоцитами их функций.

Результаты. Из 26 пациентов у 13 (50%) отмечено снижение чувствительности к АСК (подавление агрегации тромбоцитов при инкубации с АСК менее чем на 40%), при этом у 5 (38%) — полное отсутствие чувствительности к АСК. Из 26 больных на фоне приема АСК у 15 (58%) пациентов имелись сердечно-сосудистые события (ССС) в анамнезе (инфаркт миокарда с зубцом и без зубца Q, ОКН, нестабильная стенокардия, ОНМК). Из пациентов с СССР у 8 (57%) была нормальная чувствительность к АСК, у 3 (17%) — сниженная, у 3 пациентов (23%) — чувствительность к АСК отсутствовала. Среди лиц с неосложненным течением ИБС у 5 (42%) пациентов была нормальная чувствительность к АСК, сниженная — у 5 (42%), полное отсутствие чувствительности к АСК — у 2 (16%) пациентов. Среди здоровых лиц снижение резистентности к АСК отмечено у 4 (16,6%); у 1 донора чувствительность к АСК отсутствовала.

Выводы: при исследовании ингибирующей активности АСК *ex vivo* в цельной крови в условиях инкубации с применением в качестве индуктора агрегации АДФ (конечная концентрация 5,0 мкмоль/л) не выявлено связи между чувствительностью к АСК, длительностью и регулярностью приема препарата и перенесенными СССР у больных ИБС.

Лабораторные признаки резистентности к АСК наблюдались и у здоровых лиц, однако достоверно реже, чем у больных ИБС.

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА ТРОМБОЗОВ У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЭМБОЛИЯМИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

С. О. ДРУЖИНИН, В. А. КРАСАВИН

Ярославская государственная медицинская академия, г. Ярославль

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) прочно удерживает 2-3 место в структуре летальности в стационарах хирургического профиля. Немаловажно, что после первого эпизода эмболии сохраняется вероятность развития рецидива, нередко заканчивающегося смертью больного.

Цель исследования. Изучить возможности ультразвукового триплексного сканирования с целью выявления источника ТЭЛА.

Материал и методы. С сентября 2003 года обследовано 44 больных с ТЭЛА. Тромбозы вен нижних конечностей у них протекали бессимптомно и первым прояв-

лением была ТЭЛА. Исследование проводили на аппарате Acuson Sequoia 512 (Siemens) мультисекторным датчиком с частотой сканирования 5–7–10 МГц. Всем больным проводилось ЭхоКГ для выявления перегрузки правых отделов сердца и расчета давления в легочной артерии.

Результаты и обсуждение. Обследовано 44 больных с ТЭЛА. Источник ТЭЛА не выявлен у 6 пациентов (13,64%), тромбозы вен нижних конечностей диагностированы у 38 человек (86,36%).

У 29 пациентов (65,91%) ТЭЛА развилась в послеоперационном периоде у хирургических больных, ТЭЛА встречалась у 15 (34,09%) терапевтических больных, находящихся на постельном режиме. Илеофemorальные тромбозы вен ног выявлены у 12 пациентов, бедренно-подколенные тромбозы глубоких вен – у 26,

у 1 пациента выявлен тромб в правом предсердии. У 77,3% больных тромбы были окклюзионными, у 22,7% имели флотирующую головку. Пациентам с флотирующими тромбами сделаны хирургические операции – тромбэктомии, перевязки, пликация глубоких вен ног. Остальные пациенты лечились консервативно. 1 пациент с флотирующим тромбом умер от рецидива ТЭЛА. Ни у одного из пациентов после хирургических вмешательств на глубоких венах рецидивов ТЭЛА не наблюдалось.

Выводы. Триплексное сканирование позволяет найти источник ТЭЛА и определить дальнейшую тактику лечения больных с ТЭЛА в зависимости от степени эмболенности выявленных тромбов. Внедрение хирургических методов профилактики позволяет значительно уменьшить число рецидивов ТЭЛА.

РАДИОИЗОТОПНАЯ И СОНОГРАФИЧЕСКАЯ ПАТТЕРНИЗАЦИЯ АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА ПРИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ БОЛЕЗНИ (ЦВБ)

А. П. ЕЛЬЧАНИНОВ, А. В. АРТЮШКИН, Т. Н. ЕНЬКИНА, В. К. ВОЛКОВ, И. В. СИЛЯХИНА,
Н. М. БЕЛОВА, Л. И. КРАМАРЕНКО, Ю. Н. ЧАЙКОВСКИЙ, А. М. ШАПОРОВ
ФГУЗ ЦМСЧ № 122 ФМБА России, Санкт-Петербург

Введение. Накопленные за последние 20 лет данные позволяют утверждать о ключевой роли прокоагулянтного сдвига крови в развитии ЦВБ у лиц молодого, трудоспособного возраста, страдающих вегетативно-сосудистой дистонией (ВСД). В происхождении тромбоопасных свойств гемостаза значительное место занимают нарушения клиренсной функции гепатолиенальной системы. Трудно отрицать, что подавление эндотоксина макрофагов печени и перфузии селезенки имеют серьезное значение в патогенезе аутоиммунитета вообще и антифосфолипидного синдрома (АФС) в частности. Существует представление, что в основе АФС прежде всего лежит реактивная к антителам (At) микроангиопатия. Мы разделяем мнение (Насонов, 2004) о чрезвычайной важности АФС для различных разделов медицины и необходимости уточнения диагностических критериев этой патологии.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 354 пациента с ЦВБ моложе 50 лет (264 женщины и 91 мужчина). Критерии включения составили сосудистая, метеозависимая цефалгия, сопряженная с признаками нарушений венозного оттока из полости черепа по данным транскраниального цветового дуплексного сканирования (при доплерографии усиление псевдопульсации венозного кровотока в глубоких венах и синусах мозга, увеличение скорости кровотока в 2–3 раза в сравнении с нормальными показателями, истощение компенсаторных миогенных механизмов цере-

бральной сосудистой ауторегуляции и снижение сосудистой реактивности), склонность к артериальной гипотонии и «пароксизмальному мозгу». Наряду с ИФА титров кофактор-зависимых (At- β_2 GPI, At-annexin V) антикардиолипинов (АКЛ), а также ядовитым тестом крови (dRVVT) на волчаночный антикоагулянт (ВА) всем больным проводилась сцинтиграфия гепатолиенальной системы с помощью 99m Tc технефита. При изолированной низкой радиоактивности селезенки проводили (через 6–12 недель) повторную оценку вышеуказанных параметров лабораторного гемостаза.

Результаты. На основании изучения клинических и дисперфузионных проявлений установлены (см. таблицу) патогномоничные признаки начальных форм ЦВБ, ассоциированной с АФС (ЦВБ-АФС). У всех 354 больных выявлен низкий захват радиоколлоида в селе-

Таблица

Клинические и дисперфузионные критерии ЦВБ-АФС

1	Венозная цефалгия, ВСД гипотонического типа, «пароксизмальный мозг»: панические атаки, мигрени, психосенсорные лимбические припадки (déjà vu, jamais vu, dreamy states и пр.)
2	Функциональная гипоспления
3	Допплерографический паттерн венозной гиперемии мозга

зенке. Доказано, что функциональная гипоспления может опережать (37% наблюдений) появление высоких титров анти- β_2 GPI и/или annexin V At, а также феномена ВА. Исходя из предложенных Alarcon-Segovia (1992) классификационных критериев, «серонегативные», в расширенном смысле этого понятия, случаи типичной клиники ЦВБ-АФС с явлениями гипоспленизма мы предлагаем рассматривать как вероятный АФС.

Обсуждение и выводы. Согласно нашей статистике (2002–2006), число стационарных больных ЦВБ-АФС

составляет около 25% хронической ишемии мозга. Эти пациенты обычно наблюдаются психотерапевтами, хотя неврозоподобные расстройства обусловлены ишемической гипоксией лимбико-ретикулярного комплекса. Есть основания считать, что более значительные успехи как в терапии таких больных, так и профилактики инсульта могут быть достигнуты благодаря направленным на восстановление перфузии мозга противосвертывающим и иммуномодулирующим медицинским технологиям.

ЛИПИДНЫЕ РАФТЫ В МИКРОВЕЗИКУЛАХ ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ФЕНОМЕНЕ ШВАРЦМАНА

А. Д. ЗУБАИРОВА, Д. М. ЗУБАИРОВ, И. Г. МУСТАФИН,
Г. Ю. СВИНТЕНОК, И. А. АНДРУШКО
Казанский государственный медицинский университет

В крови, кроме клеточных элементов и растворенных белков, углеводов и минеральных веществ, присутствуют микровезикулы, которые были обнаружены нами в 1974 г.

В состоянии покоя фосфолипиды плазматической мембраны динамически распределены асимметрично так, что большинство аминофосфолипидных остатков — фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламины, т. е. липиды, содержащие свободную аминогруппу, — расположены во внутреннем листке бислоя, а холинсодержащие фосфолипиды сосредоточены в наружном листке. Асимметрия поддерживается вопреки соответствующим концентрационным градиентам активным АТФ-зависимым процессом. Помимо поперечной, существует планарная (латеральная) асимметрия распределения липидов, образующих как бы разнообразные плоты (рафты) в открытом море поверхности мембраны. Липидные рафты представляют собой мембранные микродомены, которые обогащены холестерином и глико-сфинголипидами. Одним из первых классов белков, которые служат меткой липидных рафтов, стали белки, имеющие гликозилфосфатидилинозитольный якорь, в частности экто-5'-нуклеотидаза.

Сосудистый эндотелий активируется патоген-ассоциированными молекулярными образцами, среди которых наиболее известен липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, называемый эндотоксином. Реагируя секрецией цитокинов, хемокинов и молекул адгезии лейкоцитов, сосудистый эндотелий играет важную роль в патогенезе множественной дисфункции органов, которая наблюдается во время сепсиса. Синтез тканевого фактора, первичного физиологического инициатора свертывания крови, при бактериальном сепсисе или вследствие сопровождающих его провоспалительных цитокинов индуцируется в активированных моно-

цитах и поврежденном эндотелии внутри сосудистой системы.

Тканевой фактор размещается в пяти различных компартментах:

- 1) на поверхности внесосудистых клеток,
- 2) в сосудистой стенке,
- 3) в аппарате Гольджи,
- 4) в кровяных микровезикулах, и
- 5) в растворимой форме.

Часть тканевого фактора в клетках скрывается в липидных рафтах. Базальный уровень активации свертывающей системы крови *in vivo* определяется комплексом *тканевой фактор—фактор VII*.

В наблюдениях за 18 добровольцами, получавшими инфузии эндотоксина, Agar O. и сотрудниками (2004) через 3–4 часа было обнаружено увеличение прокоагулянтной активности тканевого фактора, связанной с нетромбоцитарными микровезикулами, которая возвращалась к исходному уровню через 8 часов. Цель настоящего исследования — более детально изучить динамику образования микровезикул в артериальной крови кроликов после внутривенного введения эндотоксина.

Нами исследована динамика образования микровезикул в артериальной крови при генерализованном феномене Шварцмана. Внутривенное введение последовательно 1 мкг/кг и через сутки 3 мкг/кг эндотоксина кроликам вызывает увеличение, начиная с 15 минуты эндотоксинемии, количества микровезикул в крови, в том числе содержащих в своем составе маркер липидных рафтов экто-5'-нуклеотидазу. Наблюдаются двухфазные изменения скорости свертывания артериальной крови, характерные для синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, и гемолиз эритроцитов.

Ключевые слова: эндотоксин, микровезикулы, кролик, свертываемость крови, гемостаз.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОК С ПРЕДМЕНСТРУАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ ПРИ ВВЕДЕНИИ КОНТРАЦЕПТИВНОГО ВЛАГАЛИЩНОГО КОЛЬЦА

В. А. КОБИЛЯНСКАЯ, Е. В. СЛИВАНКОВА, Н. К. НИКОЛАЕВА, Н. И. МАЗЕПОВА
ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Росздрава,
Санкт-Петербург, Ленинградская областная клиническая больница

Предменструальный синдром (ПМС) — это патологический комплекс нейропсихических, вегетососудистых и эндокринно-обменных нарушений. ПМС в различных вариантах встречается практически у каждой второй женщины.

Одним из методов лечения ПМС является использование монофазных комбинированных гормональных контрацептивов, эффективно подавляющих овуляцию и циклические процессы. Важнейший аспект применения комбинированных гормональных контрацептивов — это проблема возникновения гиперкоагуляционных состояний. Для лечения ПМС использовался монофазный ультрамикродозированный комбинированный контрацептив — влагалищное кольцо, высвобождающее 15 мкг этинилэстрадиола и 120 мкг этоногестрела в день. Этот путь введения контрацептивных гормонов определяет отсутствие первичного метаболизма в печени, что позволяет предполагать минимизацию влияния кольца на систему гемостаза. В группу наблюдения вошли 72 женщины с различными формами ПМС. Средний возраст пациенток, вошедших в группу исследования, составил $27,1 \pm 1,8$ года (от 20 до 39 лет). Длительность течения ПМС в среднем составила $7,1 \pm 1,5$ года

(от 2 до 11 лет). Оценивались показатели гемостаза до начала исследования, в динамике через 3,6 и 12 месяцев использования препарата. На фоне применения контрацептивного влагалищного кольца такие показатели коагуляционных тестов, как АПТВ, активность фактора VIII, концентрация фибриногена, тромбиновое время, Хагеман-зависимый лизис эуглобулиновой фракции плазмы, оставались в пределах нормы. В то же время через 12 месяцев по сравнению с исходными данными отмечалось достоверное увеличение значения протромбинового теста по Квику ($100,4 \pm 0,4$ против $94,2 \pm 1,53$, $p < 0,05$). Индекс резистентности к активированному протеину С у 26 из 72 обследуемых женщин при контроле через 12 месяцев находился на нижней границе нормы (норма 2,3–3,5) и был достоверно снижен относительно исходного показателя ($2,95 \pm 0,09$ против $2,29 \pm 0,07$, $p < 0,001$).

Таким образом, длительное применение влагалищного контрацептивного кольца у женщин с ПМС вызывает сдвиг в сторону гиперкоагуляционных изменений. Это свидетельствует о необходимости регулярного контроля показателей гемостаза в связи с возможными тромботическими осложнениями.

Таблица 3

Динамика показателей внутрисосудистой активации тромбоцитов (ВАТ) при использовании контрацептивного влагалищного кольца у женщин с ПМС ($M \pm m$) ($n = 72$)

Показатели		Исходные данные	Через 3 мес.	Через 6 мес.	Через 12 мес.
Различные формы тромбоцитов	Дискоциты, %	$73,46 \pm 1,24$	$74,91 \pm 1,02$	$74,64 \pm 1,08$	$74,11 \pm 1,12$
	Дискоэхиноциты, %	$23,22 \pm 1,28$	$22,92 \pm 0,91$	$23,35 \pm 0,91$	$22,98 \pm 0,65$
	Сфероциты, %	$0,96 \pm 0,15$	$0,75 \pm 0,11$	$0,97 \pm 0,17$	$0,58 \pm 0,08^*$
	Сфероэхиноциты, %	$0,94 \pm 0,12$	$1,10 \pm 0,11$	$1,37 \pm 0,22$	$0,88 \pm 0,16$
Сумма активных форм тромбоцитов, %		$26,09 \pm 1,21$	$24,59 \pm 0,94$	$24,96 \pm 0,98$	$24,82 \pm 0,57$
Число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, %		$6,89 \pm 0,32$	$6,18 \pm 0,22$	$6,41 \pm 0,30$	$6,18 \pm 0,16^*$
Число малых агрегатов (по 2–3 тромбоцита)	На 100 свободных тромбоцитов	$3,56 \pm 0,19$	$3,22 \pm 0,13$	$3,20 \pm 0,16$	$3,09 \pm 0,11^*$
Число средних и больших агрегатов (по 4 и более тромбоцитов)		$0,06 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,02$

Примечание: * — достоверные изменения относительно исходных данных.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ТРОМБОЦИТАРНОГО РЕЦЕПТОРА КОЛЛАГЕНА У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНФАРКТ МИОКАРДА, И В КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЕ

К. А. КРЫШЕНЬ*, А. Н. СТОЛЯРОВА***, Е. А. БАЖЕНОВА***, О. А. БЕРКОВИЧ***,
О. В. СИРОТКИНА**

* Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет

** Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Российской Академии Наук

*** ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Росздрава, Россия

Введение. Основной причиной инфаркта миокарда (ИМ), развившегося в молодом возрасте, как правило, является тромбоз коронарных артерий, которому способствуют нарушения в тромбоцитарном звене гемостаза. На поверхности тромбоцитов находится целый ряд рецепторов, играющих ключевую роль в процессе активации и агрегации, а также патологической гиперактивности кровяных пластинок, среди них — АДФ-рецептор P2Y₁₂ и рецептор фибриногена GP IIb/IIIa, рецептор фактора Виллебранда GP Ib-V-IX, коллагеновые рецепторы GP Ia-IIa и GPVI. Известно, что мутации в генах, кодирующих тромбоцитарные рецепторы, могут быть ассоциированы с высокой функциональной активностью тромбоцитов и выступают факторами риска развития ИМ у мужчин в возрасте до 45 лет.

Цель исследования: анализ нуклеотидной замены С13254Т в гене рецептора коллагена GPVI, приводящей к аминокислотной замене серин/пролин в 219 позиции, у больных, перенесших ИМ в молодом возрасте.

Материалы и методы. Определение С13254Т GPVI проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом в группе мужчин, перенесших ИМ до 45 лет (177 человек) и в контрольной группе мужчин, без тромботических эпизодов и сердечно-сосудистых

заболеваний в анамнезе (171 человек), средний возраст обследованных $41 \pm 0,4$.

Результаты. Анализ распределения аллельных вариантов в исследуемых группах не выявил статистически значимых различий. Частоты генотипов в исследуемых группах составили: 91% и 9%, 85% и 15% для СС и СТ генотипов у пациентов с ИМ и в контрольной группе, соответственно ($p = 0,07$). Нами не было найдено гомозиготных носителей С13254Т GPVI. Полученное распределение соответствует литературным данным для европейской популяции. По результатам зарубежных исследований, полиморфизм С13254Т GPVI был ассоциирован с риском развития ИМ у пациентов среднего и старшего возраста (> 50 лет), кроме того эти исследования включали женщин. Найденное в нашей работе некоторое накопление Т-аллеля в группе здоровых мужчин по сравнению с ИМ (7,5% и 4,5%, соответственно, $p = 0,1$) и отсутствие ассоциации Т-аллеля с риском ИМ, возможно, объясняется возрастными и гендерными особенностями исследованных групп.

Выводы: полиморфизм С13254Т гена рецептора коллагена GPVI не ассоциирован с риском развития инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста.

ИНГИБИРОВАНИЕ ТРОМБИНА И ФАКТОРА Ха ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ФУКОИДАНАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ БУРОЙ ВОДОРΟΣЛИ *FUCUS EVANESCENS*

Е. С. ЛАПИКОВА¹, Н. Н. ДРОЗДА¹, А. С. ТОЛСТЕНКОВ¹,
В. А. МАКАРОВ¹, Т. Н. ЗВЯГИНЦЕВА²

¹ Гематологический Научный Центр РАМН, г. Москва

² Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, г. Владивосток

Сульфатированные полисахариды (фукоиданы), выделенные из морских водорослей, проявляют антикоагулянтную и антитромботическую активность. Ранее нами было показано, что фукоиданы, выделенные из бурых водорослей Охотского моря *Fucus evanescens* и *Laminaria cichorioides*, способны ингибировать тромбин и фактор Ха свертывающей системы крови. Известна способность сульфата протамина нейтрализовать антикоагулянтную активность сульфатированных полисахаридов нефракционированного и некоторых низко-

молекулярных гепаринов, что используется в клинической практике при угрозе кровотечений. Задачей настоящего исследования являлось сравнение способностей исходного образца фукоидана, выделенного из бурой водоросли *Fucus evanescens*, и его химических модификаций ингибировать тромбин и фактор свертывающей системы крови Ха *in vitro*. А также оценка возможности комплексообразования между исследуемыми фукоиданами и известным антидотом гепарина — сульфатом протамина.

Использованные методы. Антитромбиновую активность (аПа) образцов полисахаридов определяли с использованием 4 международного стандарта в тесте активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ, Ренам). Способность ингибировать фактор Ха свертывающей системы крови (аХа активность) определяли с использованием 1 Международного стандарта в тесте РеаКлот (Ренам). Ракетный биоспецифичный электрофорез растворов фукоиданов проводили на стеклянных пластинах в слое 1% агарозы, содержащем сульфат протамина. Высоту и площадь пиков преципитации оценивали с помощью программы PhotoM 1,31.

Результаты. Специфические аПа активности образцов, рассчитанные по стандарту гепарина в тесте АЧТВ, составили 60 ± 11 ЕД/мг для **1** и 21 ± 5 ЕД/мг — для **2**. В тесте РеаКлот специфические аХа активности составили 48 ± 8 ЕД/мг для **1** и 33 ± 4 ЕД/мг — для **2**, соответственно. В концентрациях от 0,5 до 2, 5 мкг/мл **1** образец удлинял время свертывания с $26,9 \pm 1,8$ сек до $175,3 \pm 11,6$ сек. Образец **4** удлинял время свертывания с $15,1 \pm 0,4$ сек до $45,9 \pm 1,3$ сек при концентрациях от 0,5 до 20 мкг/мл. Концентрации исследуемых образцов, при которых время свертывания плазмы крови по сравнению с контрольным ($14,8 \pm 0,5$ сек) увеличивается в 2 раза, составили $0,6 \pm 0,05$ и $13,5 \pm 1,3$ мкг/мл для **1** и **4** образцов, соответственно. Специфические аПа активности образцов, рассчитанные по стандарту гепарина, составили: 60 ± 11 ЕД/мг для **1**; 12 ± 5 ЕД/мг для **4**. В концентрациях от 0,31 до 15,5 мкг/мл **1** образец удлинял время свертывания с $32,8 \pm 0,9$ сек до $124,5 \pm 12,3$ сек. Образец **4** удлинял время свертывания с $33,9 \pm 0,8$ сек до $69,7 \pm 2,7$ сек при концентрациях от 0,93 до 15,5 мкг/мл. Концентрации исследуемых образцов, при которых время свертывания плазмы крови по сравнению с контрольным ($30,8 \pm 0,7$ сек) увеличивается в 2 раза, составили $1,8 \pm 0,5$ и $11,0 \pm 1$ мкг/мл для **1** и **4** образцов, соответственно. Выявлены следующие показатели специфических антикоагулянтных активностей фукоиданов по отношению к фактору Ха (аХа активность): $36,5 \pm 4$ ЕД/мг — для **1**; $20,3 \pm 3$ ЕД/мг — для **4**. Концент-

рации фукоиданов, при которых время свертывания плазмы крови отличалось от контрольного в 2 раза (2АЧТВ), составили для **1**, **2** и **3** образцов 120 ± 12 , 15 ± 2 и 110 ± 9 мкг/мл, соответственно. В концентрациях от 5 до 80 мкг/мл **1** и **3** образцы удлиняли время свертывания с $32,2 \pm 0,1$ сек до $56,1 \pm 0,5$ сек, с $32,4 \pm 0,3$ до $57,2 \pm 0,6$, соответственно. **2** образец удлинял время свертывания с $44,8 \pm 0,5$ сек до $66,3 \pm 0,9$ сек при концентрациях от 5 до 14 мкг/мл. В наибольшей степени удлинял время свертывания плазмы **3** образец. В концентрациях от 15,5 до 44 мкг/мл **1** образец удлинял время свертывания с 27,7 до 49 сек, **2** образец удлинял время свертывания с 25,7 до 42 сек при концентрациях от 15,5 до 50 мкг/мл, и **3** образец удлинял время свертывания с 26 сек до 43,4 сек при концентрациях от 10 до 31 мкг/мл. Концентрации фукоиданов, при которых скорость свертывания плазмы крови отличалась от контрольной в 2 раза (2РеаКлот), составили для **1**, **2** и **3** образцов $44,7 \pm 10$, 47 ± 7 и $35,5 \pm 7$ мкг/мл, соответственно. При концентрациях от 0,28 до 5,68 мкг/мл **1** образец снижал скорость гидролиза амидолитической реакции от $0,221 \pm 0,005$ до $0,081 \pm 0,009$ $\Delta A_{405}/\text{мин}$. **2** образец снижал скорость гидролиза амидолитической реакции от $0,246 \pm 0,005$ до $0,184 \pm 0,022$ $\Delta A/\text{мин}$ при концентрациях от 0,57 до 22,73 мкг/мл. **3** образец при концентрациях от 0,28 до 2,84 мкг/мл снижал скорость реакции от $0,185 \pm 0,007$ до $0,067 \pm 0,001$ $\Delta A/\text{мин}$. Концентрации фукоиданов, при которых скорость гидролиза хромогенного субстрата тромбином снижалась в два раза, составили 1,5; 2 и более 1000 мкг/мл для **1**, **2** и **3** образцов, соответственно. Исследованные образцы фукоиданов, внесенные в гель в концентрациях 0,31, 0,63, 1,25, 2,5 и 5 мкг/мл, соответственно, образуют комплексы с сульфатом протамина.

Выводы. Таким образом, исследуемые фукоиданы с разной степенью очистки, выделенные из бурых водорослей *Fucus evanescentes*, способны ингибировать фактор Па (тромбин) и фактор Ха, а также создавать комплексы с классическим антидотом гепарина — сульфатом протамина.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АНТИГЕНА ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА ПРИ ПОДАГРЕ

Н. А. ЛАПКИНА, А. А. БАРАНОВ, В. Г. БАРСКОВА, Н. Е. АБАЙТОВА, И. А. ЯКУНИНА

Государственная медицинская академия, г. Ярославль

ГУ Институт Ревматологии РАМН, г. Москва

Введение. Для подагры характерно частое сочетание с такими заболеваниями, как артериальная гипертензия, метаболический синдром и СД 2 типа, при которых наблюдается высокий риск развития кардиоваскулярных заболеваний. В настоящее время известно, что активация эндотелия играет важную роль в развитии атеросклероза.

Материалы и методы. Исследовано 89 мужчин с подагрой в возрасте от 21 до 70 лет. Длительность болезни составила 5,0 [3,0; 8,3] лет, все пациенты находились в межприступном периоде. Метаболический синдром (МС) диагностирован у 43 (48,3%) больных, 12 (27,9%) из них страдали сахарным диабетом 2 типа. У 67 (75,3%) пациентов наблюдалась артериальная гипертензия (АГ).

ИБС выявлена у 15 (16,8%) больных. У 86 (96,6%) пациентов измерена толщина комплекса интима-медиа общих сонных артерий (ТИМ ОСА) с помощью дуплексного ангиосканирования. В качестве лабораторного маркера активации эндотелия исследовали концентрацию в сыворотке крови антигена фактора фон Виллебранда (ФВ:Аг) твердофазным иммуноферментным методом.

Результаты. Концентрация ФВ:Аг у больных подагрой составила 1,16 [0,90; 1,62] Ме/мл, что значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). У 23 (25,8%) больных подагрой уровень ФВ:Аг превышал верхнюю границу нормы (2,1 Ме/мл). Выявлены значимые раз-

личия концентрации ФВ:Аг у больных с ИБС и без ИБС 2,12 [1,10; 2,71] Ме/мл и 1,18 [0,90; 1,95] Ме/мл соответственно ($p < 0,05$).

Не отмечено различий уровня ФВ:Аг у больных с МС и без него, а также у пациентов с СД тип 2 и без него ($p > 0,05$). Отмечена взаимосвязь концентрации ФВ:Аг с возрастом обследованных больных ($r = 0,32$, $p < 0,05$), уровнем СОЭ ($r = 0,26$, $p < 0,05$), СРБ ($r = 0,23$, $p < 0,05$) и значениями ТИМ ОСА ($r = 0,45$, $p < 0,05$).

Выводы. Увеличение концентрации ФВ:Аг при подагре отражает не только активацию эндотелия сосудов, но и развитие атеросклеротического процесса у этих больных.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕКСАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Г. Я. ЛЕВИН, И. Ю. ЕЖОВ, Л. Н. СОСНИНА, А. А. КОРЫТКИН, Б. Ю. БЕЛОУСОВ
ФГУ Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии Росздрава

Тромбозы глубоких вен (ТГВ) принадлежат к числу частых осложнений в ортопедической практике. После эндопротезирования тазобедренного сустава ТГВ при отсутствии специфической профилактики выявляются в 45–70% случаев. Внедрение комплексной профилактики, в первую очередь низкомолекулярных гепаринов, позволяет значительно снизить частоту развития послеоперационных тромботических осложнений в ортопедии. Наиболее обсуждаемыми вопросами остаются: длительность назначения НМГ, частота возникновения кровотечений и тромбоцитопении.

Представленные данные получены в рамках многоцентрового международного исследования IV стадии. В нем принимали участие 64 больных, которым, в основном в связи с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава, проведено его эндопротезирование. Клексан в дозе 40 мг вводили однократно ежедневно в течение 4–5 недель после операции. Шести больным первую инъекцию осуществляли за 12 часов до операции, остальным — через 6 часов после нее. Им на седьмой день после операции проводили восходящую двухстороннюю флебографию. Все больные наблюдались в течение трех месяцев после операции.

Установлено, что длительное применение клексана оказалось очень эффективным. Лишь у одного больного на пятый день после операции появились клинические признаки тромбоза глубоких вен голени, диагноз которого подтвердился при доплерографии вен нижних конечностей. Продолжено лечение клексаном, клинические проявления нивелировались, симптомов тромбоза не было. В то же время даже длительный курс клексана оказался достаточно безопасным. Лишь у од-

ного больного через две недели после операции возникла повышенная кровоточивость из операционной раны, что связывалось с клексаном, и его введение было прекращено. Снижения числа тромбоцитов у больных, получавших клексан, не происходило. Лишь у одной больной через три дня после операции концентрация тромбоцитов уменьшилась до 150 тыс./мм³. Антикоагулянтную терапию не прекращали, повышенной кровоточивости не наблюдалось. Через 4 дня тромбоцитопения была ликвидирована.

Важное значение для определения длительности антикоагулянтной терапии имеет динамика Д-димеров. Возрастаение их концентрации происходит в ближайшие сутки после эндопротезирования тазобедренного сустава и достигает максимума к десятым суткам: $913,0 \pm 185,04$ мкг/л — в старшей возрастной группе и $503,3 \pm 169,18$ мкг/л — у больных в возрасте до 60 лет. Причина роста Д-димеров в ближайшем послеоперационном периоде очевидна — она связана с образованием тромбов в операционной ране при эндопротезировании. Принципиальное значение имеет дальнейшая динамика Д-димеров. Их увеличение к десятым суткам можно объяснить тем, что активация процесса фибринообразования продолжается длительное время и особенно выражена у пожилых больных.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости длительной профилактики тромботических осложнений у данного контингента больных. Проведение ее с помощью клексана приводило к купированию фибринообразования — уровень Д-димеров значительно снижался: к 30 дню после операции Д-димеры отсутствовали у 61,5% больных старшей возрастной группы и у 85,7% больных — до 60 лет.

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОЙ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ И ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Н. Ю. ЛЕВШИН, А. А. БАРАНОВ, А. В. АРШИНОВ, Н. Е. АБАЙТОВА, Н. А. ЛАПКИНА

Ярославская государственная медицинская академия
Кафедра клинической лабораторной диагностики

Введение. Взаимосвязь воспаления и гемостаза очевидна. Аутоиммунное повреждение тканей и активация тромбообразования дополняют друг друга, обуславливают тяжесть ревматических заболеваний, в том числе СКВ. Пульс-терапия (ПТ) тяжелых форм СКВ не может не отражаться на системе гемостаза. Интересно сопоставление противовоспалительного эффекта ПТ СКВ и ее влияния на тромбоциты и эндотелий — важнейший регулятор тромбообразования.

Материалы и методы. 1-я группа больных (30 человек) получала трехдневную ПТ 6-метилпреднизолоном (6-МП), 1000 мг/сут в/в, во 2 группе (30 больных) к 6-МП добавлялся 1 г циклофосфана (ЦФ) на 2 день ПТ. Оценивались концентрация Фв:Аг в сыворотке, агрегация тромбоцитов с индукторами ристоцетин, АДФ, коллаген (агрегометр BIOLA LA-230). Показатели определялись до ПТ, на 1 и 10 дни после нее.

Результаты. До ПТ у больных отмечалось повышение спонтанной агрегации тромбоцитов и агрегации с ристоцетином, снижение агрегации с коллагеном и повышение содержания в сыворотке Фв:Аг. ПТ 6-МП

достоверно снижала спонтанную агрегацию (без достижения нормы к 10 дню), а комбинированная ПТ — к меньшему снижению показателя. Уровень агрегации с ристоцетином при ПТ 6-МП, наоборот, снижался достоверно медленнее по сравнению с группой, получавшей ПТ с ЦФ, где к 10 дню показатель нормализовался. Сходную динамику имела концентрация Фв:Аг, но до нормы в обеих группах она не снижалась. Агрегация с коллагеном свидетельствовала об истощении тромбоцитов в 1 день после ПТ (в обеих группах, большем — при ПТ с ЦФ) с восстановлением к 10 дню после ПТ. Активность СКВ после ПТ достоверно снижалась в обеих группах больных.

Выводы. Различные схемы ПТ снижают активацию первичного гемостаза у больных СКВ за счет противовоспалительного эффекта. Однако наличие у ПТ умеренного активирующего первичный гемостаз влияния (критерий — динамика агрегации с коллагеном) может препятствовать подавлению активности СКВ, это является фактором риска развития тромбозов, требует дополнительной коррекции.

ГЕМОСТАЗ И ФИБРИНОЛИЗ ПРИ АУДИОГЕННОМ ШОКЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. В. ЛЮТОВА, В. Б. КОШЕЛЕВ, М. А. КАРАБАСОВА

Московский Государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Ранее нами на модели аудиогенного шока было показано, что у экспериментальных животных неврологические реакции проявлялись в виде эпилептических припадков, парезов и нарушения двигательной активности. Возникали очаги мозговых кровоизлияний — геморрагические инсульты. В связи с этим целью настоящего исследования было изучение некоторых параметров состояния систем гемостаза и фибринолиза при аудиогенном шоке. Эксперимент проводили на белых крысах линии Крушинский—Молодкина, генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. Животных помещали в камеры, куда в течение 10 минут подавали звуковой сигнал. После прекращения сигнала из яремной вены брали пробы крови с 3,8% цитратом натрия в соотношении 9:1. В плазме крови определяли фибринолитическую активность эуглобулиновой фракции, активность плазмينا и тканевого активатора плазминогена. Гемостаз оценивали по уровню фибриногена и показателям тромбоэластограмм, записанных на тромбоэлас-

тографе фирмы «Hellige». Было обнаружено, что фибринолитическая активность эуглобулиновой фракции опытных животных в 1,4 раза выше, чем в контроле. Активность плазмينا превышала норму в 6, а активатора плазминогена — в 8 раз. Концентрация фибриногена у стрессированных животных составляла в среднем 5,08 г/л, у контрольных — 3,1 г/л. Показатели г, k, та тромбоэластограмм свидетельствовали о наличии гиперкоагуляции у крыс опытной группы. Ускорение времени тромбопластино- и тромбинообразования, а также эластичность сгустка и общий индекс коагуляции в несколько раз превышали контрольные показатели.

Представленные данные свидетельствуют о значительном нарушении функционирования систем гемостаза и фибринолиза при аудиогенном шоке. Это может стать причиной не только отмеченных нами ранее геморрагических инсультов, но и возникновения тромбозов и диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

ЗНАЧЕНИЕ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА И ЕГО КОМПЛЕКСА С ГЕПАРИНОМ В ВОССТАНОВЛЕНИИ ФУНКЦИИ ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЕЕ ДЕПРЕССИИ

Л. А. ЛЯПИНА, В. Е. ПАСТОРОВА, А. М. УЛЬЯНОВ, Т. Ю. ОБЕРГАН

Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, лаборатория защитных систем крови им. проф. Б. А. Кудряшова

Эндогенный лиганд плазмы крови — аденозинтрифосфат (АТФ) усиливает мозговое и коронарное кровообращение, участвует во многих процессах метаболизма веществ в организме, применяется при сердечно-сосудистой недостаточности и спазмах периферического кровообращения. Его комплекс с гепарином усиливает антикоагулянтно-фибринолитические свойства плазмы крови при введении в организм.

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении участия АТФ и его комплекса с гепарином в коррекции функции противосвертывающей системы (ПСС) при старении организма и развитии инсулинзависимого экспериментального диабета у крыс. Использовались модели животных с депрессией функции ПСС:

- 1) при старении организма (животные в возрасте 11–12 месяцев);
- 2) при развитии сахарного диабета, вызываемого введением аллоксана.

Состояние функции ПСС оценивалось коагулологическими методами, включающими определение степени агрегации тромбоцитов, антикоагулянтной активности по тесту АЧТВ, суммарной (СФА), неферментативной (НФ) и ферментативной (по активности тканевого активатора плазминогена) фибринолитической активностей, активности фактора XIIIa. У животных в возрасте 11–12 месяцев отмечалось достоверное снижение АЧТВ, СФА, НФ, увеличение агрегации тромбоцитов и активности фактора XIIIa. Таким животным в течение 4–5 дней через каждые 24 часа внутримышечно вводили АТФ (одна группа) или его комплекс с гепарином (другая группа крыс) в дозе 1 мг/кг массы тела;

анализ крови производили спустя 1 час после последнего введения препаратов. Оказалось, что в обеих группах крыс восстановился нормальный уровень АЧТВ, СФА, НФ, агрегации тромбоцитов, активности фактора XIIIa, а активность тканевого активатора плазминогена в группе крыс, получавших комплекс, даже превысила контрольные значения, отмечаемые у здоровых животных. При сопоставлении противосвертывающей активности двух групп животных установлен больший эффект в группе крыс, получавших комплекс АТФ с гепарином. В другой серии экспериментов на модели животных с экспериментальным сахарным диабетом многократное (в течение 8–10 дней) внутримышечное введение комплекса способствовало восстановлению нарушенных функций противосвертывающей и инсулярной систем организма: антикоагулянтно-фибринолитические свойства плазмы, степень агрегации тромбоцитов и уровень сахара таких крыс соответствовали контрольным значениям, наблюдаемым у здоровых животных. Эквивалентная по отношению к комплексу доза АТФ также приводила к достоверному восстановлению функции ПСС, хотя и в меньшей степени, чем сам комплекс. Что касается изменения уровня сахара после введения АТФ, то необходимо отметить его снижение, хотя и не до нормальных величин.

Таким образом, проведенное исследование показало значительную роль АТФ и его комплекса с гепарином в восстановлении нарушенной функции противосвертывающей системы при ее депрессии (то есть возможности развития тромботических осложнений), возникающей как при старении организма, так и при развитии инсулинзависимого диабета.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ, ЛЕЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ РЕОЛОГИИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Ю. Е. МАЛЬЧЕВСКИЙ, М. Д. МАЛЬЧЕВСКАЯ, В. В. ПОТЫЛИЦЫНА

НИИ Медпроблем Севера СО РАМН, г. Красноярск, Россия

Обследовано 578 мужчин в возрасте 40–69 лет с ишемической болезнью сердца (ИБС) и 97 мужчин этой возрастной группы с ишемическим инсультом. У всех пациентов выявлены нарушения реологических свойств

крови. Все больные были разделены на 4 подгруппы, репрезентативные по возрасту. 2 группы по нозологии: пациенты с ИБС и пациенты с ишемическим инсультом. У больных с ИБС 196 человек в I подгруппе получали

только медикаментозную терапию, 382 человека II подгруппы — в комплексную терапию включили проведение плазмафереза (ПА). У больных с ишемическим инсультом 43 человека в III подгруппе получали стандартную терапию, для 54 пациентов в IV подгруппе комплексная терапия включала проведение ПА. Число сеансов ПА в течение одного курса варьировало от одного до шести, а количество удаленной плазмы — от 0,2 до 1,5 объемов циркулирующей плазмы у каждого пациента. Для оценки влияния ПА на систему гемостаза, сократительную способность миокарда, линейную скорость кровотока проводили исследование гемостаза, эхокардиографию, дуплексное сканирование артерий среднего калибра нижних конечностей до и после ПА на 5–6 сутки.

Снижение линейной скорости кровотока тесно коррелировало с уровнем растворимых фибриномономерных комплексов (РФМК) и Д-димеров (ДД). Чем ниже была линейная скорость кровотока, тем выше содержание РФМК и ДД.

Установлено, что у больных I группы содержание в крови растворимых фибриномономерных комплексов (РФМК), фибриногена (Ф), Д-димеров (ДД), фактора

Виллебранда (ФВ) на фоне лечения существенно не изменилось и составило для РФМК в среднем 94 мкг/мл в первом исследовании и 87 мкг/мл — во втором, для Ф — 4,1 и 3,8 г/л, соответственно, для ДД — 750 и 700 нг/мл, соответственно, для ФВ — 173 и 165%, соответственно. Фракция выброса левого желудочка также осталась на исходном уровне — 55,8% и 56,7%. Линейная скорость кровотока также мало изменилась: 17,8 см/сек и 18,3 см/сек.

Данные обследования пациентов II группы достоверно различались до и после проведения курса ПА: РФМК, соответственно, — 95 и 35 мкг/мл, Ф — 4,2 и 2,8 г/л, ДД — 780 и 340 нг/мл, ФВ — 175 и 128%. Фракция выброса — 56 и 65,3%, линейная скорость кровотока — 17,3 и 24,9 см/сек.

Таким образом, использование ПА в комплексной терапии больных с ИБС, ишемическим инсультом, сопровождающимися нарушениями реологических свойств крови, является необходимым для нормализации микроциркуляции тканей, улучшения сократительной способности миокарда, восстановления линейной скорости кровотока.

СЛУЧАЙ ДИСПЛАЗМИНОГЕНЕМИИ У БОЛЬНОГО С РАННИМ РАЗВИТИЕМ АТЕРОСКЛЕРОЗА И ТРОМБОЗОВ

А. Н. МАМАЕВ*, Д. В. ФЕДОРОВ**, Н. В. ВОСТРИКОВА**,
К. М. БИШЕВСКИЙ**, Е. Е. КЛИМОВА**

* Городская больница № 11, г. Барнаул, Россия

** Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия

При обследовании больных с артериальными тромбозами мы обнаружили больного с дисплазминогемией, которая сопровождалась ранним развитием системного атеросклероза. Целью этой работы было представить описание этого редкого случая.

Больной Ш., 47 лет, поступил в отделение сосудистой хирургии с клиническими проявлениями облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей. Больной в течение десяти лет наблюдается у врачей по поводу системного атеросклероза. За время заболевания дважды отмечены эпизоды атеротромбоза: инфаркт миокарда и тромбоз левой бедренной артерии. Постоянно принимает аденоблокаторы, нитраты, аспирин. Проведено исследование крови: Hb — 145 г/л; РОЭ — 7 мм/ч; лейкоциты — $5,4 \cdot 10^9$ /л; лейкоцитарная формула: Б — 1%, Э — 1%, П — 1%, С — 57%, Л — 32%, М — 8%; креатинин — 74 мкмоль/л; мочевины — 5,9 ммоль/л; общий билирубин — 13 мкмоль/л, прямой — 4 мкмоль/л, непрямой — 9 мкмоль/л; глюкоза — 4,6 ммоль/л; СРБ +; общий белок — 82,9 г/л, альбумины — 50,0%, α_1 — 5,0%,

α_2 — 11,0%, β — 14,0%, γ — 20,0%. На электрокардиограмме — блокада правой ножки пучка Гиса и постинфарктный кардиосклероз. При анализе системы гемостаза обнаружена лишь дисплазминогемия, а другие показатели системы гемостаза были в пределах нормы.

Выводы. В представленном клиническом примере демонстрируется редкое сочетание раннего атеросклероза и дисплазминогемии. Как следует из анамнеза, дисплазминогемия у этого больного сопровождалась артериальными тромбозами, что является весьма типичным сочетанием, поскольку известно, что дисплазминогемия — это вариант тромбофилии и причина развития рецидивирующих тромбозов, тромбоэмболий, инфарктов и других тромботических нарушений. Сущность патогенеза тромбозов при этом заболевании заключается в недостаточной способности плазматина разрушать фибрин. Мы решили представить этот клинический пример, поскольку ранее мы не встречали описания подобного сочетания клинических проявлений и лабораторных данных.

ЧАСТОТА ГИПЕРПРОДУКЦИИ КОАГУЛЯЦИОННЫХ ФАКТОРОВ VIII И IX У БОЛЬНЫХ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

А. Н. МАМАЕВ*, Д. В. ФЕДОРОВ**, Н. В. ВОСТРИКОВА**, Е. Е. КЛИМОВА**, К. М. БИШЕВСКИЙ**,
О. Г. СИМОНОВА**, Г. А. РОМАНОВА*, О. В. БЕСПАЛОВА*, Д. Г. МОРОЗОВ*

* Городская больница № 11, г. Барнаул, Россия

** Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия

Известно, что ишемические повреждения головного мозга и инфаркты миокарда нередко сопровождают артериальную гипертензию. Кроме того, на сегодняшний день представлено много данных о патогенезе атеросклеротического поражения мозговых сосудов и роли гемодинамических нарушений в генезе тромботических нарушений при этой патологии, однако роль гиперпродукции коагуляционных факторов VIII и IX в патогенезе артериальной гипертензии и ее осложнений изучена недостаточно, хотя известно, что повышение концентрации этих факторов в крови предрасполагает к тромбозам, т. е. является тромбофилическим состоянием.

Цель исследования. Целью нашего исследования было оценить частоту повышения уровней коагуляционного фактора VIII и коагуляционного фактора IX во время периода нестабильности артериального давления у больных с эссенциальной артериальной гипертензией.

Материалы и методы. Для осуществления этой цели нами было обследовано 54 больных (12 мужчин и 42 женщины), страдающих артериальной гипертензией, при ухудшении течения этого заболевания в возрасте от 34 до 76 лет. Эту группу составили больные с осложнениями артериальной гипертензии (ОНМК, ОИМ) в анамнезе и без осложнений, больные с 3 и 4 степенью риска, а также с признаками системного атеросклероза. Уровень коагуляционных факторов VIII и IX определяли одностадийными коагуляционными методами.

Результаты. Как известно, диапазон колебаний уровня факторов VIII и IX в нормальной плазме весьма широк и составляет 50–150%. Из числа обследованных больных с нестабильным течением артериальной гипертензии высокий фактора VIII (более 150%) был нами выявлен у 10 больных (18,5%). Средний уровень коагуляционного фактора VIII у этих 10 больных составил $188 \pm 4,3\%$. Из числа больных с гиперпродукцией фактора VIII у 9 больных уровень коагуляционного фактора VIII оказался в диапазоне от 160 до 190%, и лишь у 1-го уровень этого прокоагулянта был существенно повышен и равнялся 210%.

Во время периода нестабильности артериального давления высокий уровень фактора IX (более 150%) был выявлен у 4-х больных (7,4%). При этом у 2-х больных уровень этого прокоагулянта оказался в диапазоне от 160 до 199%, и еще у 2-х больных уровень был 200% и 240%.

Выводы. Таким образом, в данной работе показано, что при нестабильности артериального давления нередко выявляются тромбофилические состояния, обусловленные гиперпродукцией коагуляционных факторов VIII и IX, что имеет существенное значение в патогенезе осложнений при этом заболевании, поскольку является дополнительным независимым фактором риска развития тромботических нарушений при артериальной гипертензии.

К ВОПРОСАМ ОРГАНИЗАЦИИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА В УЧРЕЖДЕНИЯХ ПЕРВИЧНОГО ЗВЕНА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

А. П. МОМОТ

Алтайский филиал Гематологического научного центра РАМН, г. Барнаул, Россия

Современное состояние дел в части клинико-лабораторной диагностики нарушений гемостаза в низовом звене здравоохранения, имеющем в своем штате клинико-диагностические лаборатории, нельзя считать удовлетворительным. Определения так называемого ПТИ (протромбиновый индекс) и концентрации фибриногена, как правило, не информативны, особенно когда они выполняются устаревшими методами с применением нестандартизованных реагентов.

На наш взгляд, прежде всего имеется необходимость наладить в таких лабораториях контроль за приемом непрямых антикоагулянтов (варфарина) с выражением результатов в единицах международного нормализованного отношения (МНО). Как хорошо известно, это достижимо с определенной гарантией качества при использовании стандартизованного по международному индексу чувствительности (МИЧ) тромбопластина и 1–2-канального коагулометра отечественного или

импортного производства, хорошо зарекомендовавшего себя на практике. Проблема качественного мониторинга кумариновой терапии у кардиологических, сосудистых больных и у пациентов после обширных ортопедических вмешательств по месту жительства пациентов — одна из серьезнейших проблем преемственности между высоко специализированными центрами оказания помощи и лечебными учреждениями на местах. Утрата такой связи чревата потерей реального контроля за дозировкой варфарина с индукцией тяжелых кровотечений либо развития и рецидивирования системных эмболий и ТЭЛА. Целесообразной видится идея об организации в России межрайонных контрольных лабораторий, осуществляющих контроль за безопасностью и достаточностью варфаринотерапии.

В числе методов для включения в коагулограмму на данном этапе оказания медицинской помощи целесообразно рассмотреть: 1) определение времени кровотечения в стандартном варианте с использованием манжетки по Айви; 2) подсчет количества тромбоцитов в камере Горяева при фазовой контрастной микроскопии или на гематологическом анализаторе; 3) активирован-

ное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ); 4) протромбиновое время свертывания; 5) определение концентрации фибриногена коагулометрически (по Клауссу); 6) оценку уровня растворимого фибрина (РФМК) в плазме крови по орто-фенантролиновому тесту. Объем информации, полученной при проведении данных методов исследования представляется достаточным для первичной диагностики основных видов врожденных и приобретенных вариантов нарушений гемостаза и контроля эффективности гемостатической или, напротив, противотромботической профилактики и терапии.

В рамках организации качественной диагностики нарушений гемостаза в низовом звене здравоохранения жизненно необходимым представляется планомерное обучение как специалистов лабораторной диагностики, так и врачей-клиницистов основам диагностики и лечения патологии гемостаза. Эти вопросы требуют серьезной проработки, рассмотрения возможности включения обучающего курса не только в программу циклов усовершенствования врачей, но и в материалы учебных программ вузовского образования.

АКТИВНОСТЬ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ (АНТИТРОМБИНА И ПРОТЕИНА С) У ДЕТЕЙ С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ С МИНИМАЛЬНЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ (НСМИ) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Я. В. ПАНИЮТИНА*, В. А. КОБИЛЯНСКАЯ**

* Санкт-Петербургская Государственная Педиатрическая Медицинская Академия

** ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, Санкт-Петербург

Исследована активность антитромбина и протеина С в крови у 39 детей в активный период НСМИ (протеинурия более 1 г/м²/сут, гипоальбуминемия менее 25 г/л): в дебюте — у 11, с рецидивирующим течением — у 19, с часто рецидивирующим течением заболевания — у 9 больных. Контрольную группу составили 11 детей в клинико-лабораторной ремиссии НСМИ (более 5 лет).

У всех обследованных детей в активный период НСМИ выявлено снижение активности антитромбина ($60,6 \pm 3,9\%$, $p < 0,0001$) и повышение активности протеина С ($154,1 \pm 7,5\%$, $p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Наиболее выраженные изменения активности антитромбина были зафиксированы у больных с дебютом и часто рецидивирующим течением ($50,3 \pm 3,2\%$ и $48,02 \pm 7,01\%$ соответственно), тогда как активность протеина С не зависела от варианта течения. Выявлены различия в корреляционных отношениях между активностью антитромбина и биохимическими показателями при НСМИ, участвующими в нарушениях реологии крови. У больных с дебютом заболевания наибольшая

корреляционная связь установлена между активностью антитромбина и гипоальбуминемией ($r = 0,85$, $p < 0,003$) и гипер β -липопротеидемией ($r = -0,81$, $p < 0,01$). У детей с рецидивирующим течением заболевания высокая корреляция обнаружена между активностью антитромбина и гипер α 2-глобулинемией ($r = -0,75$, $p < 0,01$), а также гиперхолестеринемией ($r = -0,61$, $p < 0,05$). При часто рецидивирующем течении выявлена корреляционная связь между активностью антитромбина и уровнем фибриногена в крови ($r = -0,81$, $p < 0,01$) и α -2-глобулинами ($r = -0,7$, $p < 0,05$).

Мы считаем, что снижение активности антитромбина у детей с НСМИ является одной из главных причин развития гиперкоагуляции и тромботических осложнений. Снижение активности антитромбина зависит от варианта течения заболевания. На это снижение, кроме основного заболевания, могут влиять различные факторы, участвующие в нарушении реологии крови. Повышение активности протеина С в активном периоде НСМИ, возможно, является компенсаторным ответом на дефицит антитромбина.

АДАПТОГЕН СИСТЕМЫ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ — ТИОСУЛЬФАТ НАТРИЯ

Д. М. ПУЧИНЬЯН, Г. В. КОРШУНОВ, М. В. ГИРКАЛО, С. Ш. ШАХМАРТОВА
ФГУ СарНИИТО Росздрава, г. Саратов, Россия

Известно, что нефракционированный и низкомолекулярные гепарины свою активность проявляют в присутствии антитромбина III. Поэтому с точки зрения адаптационной реакции системы гемостаза на операционную агрессию изменения концентрации эндогенного антитромбина III в процессе лечения можно рассматривать в качестве показателя степени адекватности функционирования системы. Лекарственные препараты, обладающие адаптогенными свойствами, нашли применение в различных областях медицины. Е. И. Иконниковой [1] показано, что тиосульфат натрия ингибирует свертывания крови за счет усиления антитромбиновых свойств крови.

Цель работы: изучение влияния тиосульфата натрия на уровень адаптации системы гемостаза у больных коксартрозом.

Материал и методы исследования. 72 больным с дегенеративными поражениями тазобедренного сустава в возрасте от 26 до 72 лет (средний возраст — 56 ± 12 лет) с продолжительностью заболевания от 2 до 23 лет (в среднем 9 ± 5 лет) проведена операция тотального замещения тазобедренного сустава. Среди пациентов было 27 мужчин (37,5%) и 45 женщин (62,5%). Операция в среднем продолжалась 117 минут. Кровопотеря во время операций составляла 450 ± 50 мл и по дренажам — 150–300 мл.

У всех больных изучали в динамике коагуляционные свойства крови: до операции, в 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки после эндопротезирования тазобедренного сустава. Определяли активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновое время (ПВ), концентрацию фибриногена (Ф-н), тромбиновое время (ТВ), активность антитромбина III (АТ-III) и время XIIa-зависимого фибринолиза (Ф-лиз) с использованием тест-наборов фирмы «Ренам» (Москва). Наличие продуктов паракоагуляции оценивали с помощью этанолового теста [2]. Контрольную группу составили 18 практически здоровых людей в возрасте от 22 до 54 лет.

Кроме того, производили оценку резервных антитромбиновых возможностей сосудистого компонента системы гемостаза, выполняя функциональную (манжеточную) пробу с созданием локальной гипоксии в верхней конечности продолжительностью 3 мин., с определением ТВ и активности АТ-III.

Об адекватности реакции системы гемостаза на проведенную манжеточную пробу судили по удлинению ТВ и/или увеличению активности АТ-III (адаптационная реакция системы гемостаза). Отсутствие адекватной реакции со стороны сосудистой стенки на локальную

гипоксию расценивали как дезадаптационное состояние системы гемостаза.

По результатам манжеточной пробы были выделены две группы пациентов: больные с адаптационным реагированием системы гемостаза (1-я группа, $n = 25$) и с дезадаптационной реакцией (2-я группа, $n = 47$). Во 2-й группе выделили группы сравнения (24 больных) и основную (23 больных).

Пациентам основной группы с дефицитом активности АТ-III для повышения антитромбинового потенциала крови внутривенно вводили 30%-й раствор тиосульфата натрия по 10 мл в течение 5–8 дней. Как правило, за это время удавалось повысить активность АТ-III в плазме крови до 80% и более. В дальнейшем профилактику тромботических осложнений у данной группы больных проводили по одной из общепринятых схем, как и у остальных пациентов. Специфическая противотромботическая профилактика заключалась в использовании фракционированных низкомолекулярных гепаринов (клексана по 40 мг или фраксипарина по 7600 МЕ анти-Ха активности, под кожу, за 12 часов до операции и затем после операции каждые 24 часа в течение 7 суток), непрямого антикоагулянта варфарина (с 5-х суток с рекомендацией применения в течение не менее 30 дней под контролем МНО), свежезамороженной плазмы — источника антитромбина III (внутривенно, во время операции). Из неспецифических методов профилактики применяли реополиглокин, эластическую компрессию голеней, раннюю активизацию больных (на 2-е сутки после операции).

Полученный цифровой материал подвергнут статистической обработке с вычислением критерия достоверности по Стьюденту [3].

Результаты. В ответ на создание локальной гипоксии верхней конечности у пациентов группы I удлинялось ТВ (с $15,6 \pm 0,2$ сек. до $16,8 \pm 0,3$ сек.; $p < 0,05$) и увеличивалась активность АТ-III (с $79,7 \pm 0,5\%$ до $84,2 \pm 0,7\%$; $p < 0,001$). В группе II (сравнения и основной) изменения ТВ (с $14,6 \pm 0,3$ до $13,7 \pm 0,4$; $p > 0,05$) отражали тенденцию к снижению антитромбиновых свойств крови, а сдвиги активности АТ-III (с $76,9 \pm 0,3\%$ до $70,8 \pm 0,4\%$; $p < 0,001$) свидетельствовали о выраженном его угнетении.

В 1-е сутки после операции у больных группы I наблюдалось угнетение процессов образования протромбиназы по внутреннему и внешнему механизмам, повышение антитромбиновой активности и угнетение фибринолиза. На 3–7-е сутки повышение активности внутреннего и внешнего механизмов тромбообразо-

вания и увеличение уровня фибриногена в плазме крови сопровождалось угнетением антитромбиновых свойств крови, активности АТ-III и фибринолиза. В крови развивалась выраженная тромбофилическая реакция. На 14-е сутки нормализовались функциональные взаимоотношения между про- и антикоагулянтными звеньями системы свертывания крови, и только количество фибриногена в крови было достоверно выше дооперационного уровня.

У пациентов группы сравнения в 1-й послеоперационный день отмечались существенные изменения в показателях АЧТВ и ПВ, отражающие угнетение внутреннего и внешнего путей тромбообразования, при этом уровень фибриногена был достоверно выше дооперационного значения. Одновременно наблюдалось выраженное угнетение антитромбиновой и фибринолитической активности крови. Указанные данные свидетельствуют о том, что, несмотря на интра- и послеоперационную гемодилюцию, в системе свертывания крови развивается выраженная гиперкоагуляционная реакция. Это подтверждается и ростом числа больных с положительным этаноловым тестом.

На 3–7-е сутки после операции отчетливо выявлялась гиперкоагуляция плазмы крови, обусловленная активацией внутреннего механизма образования протромбиназы, гиперфибриногемией, депрессией антитромбиновых и фибринолитических свойств крови, продолжалось увеличение числа лиц с наличием повышенного уровня продуктов паракоагуляции в крови. Высокий тромбогенный потенциал крови в этот период следует рассматривать как фактор риска развития тромботических осложнений.

На 14-е сутки послеоперационного периода сохранялся повышенный гемокоагуляционный потенциал, о чем свидетельствовали увеличенный уровень фибриногена, низкая активность АТ-III и угнетенный фибринолиз. Достаточно высок был процент пациентов с положительным этаноловым тестом.

Применение тиосульфата натрия у основной группы больных способствует росту уровня АТ-III. На этом

фоне в 1-е сутки после эндопротезирования тазобедренного сустава наблюдались снижение активности внутреннего и внешнего механизмов тромбогенеза, тенденция к гиперфибриногемии. Остальные показатели коагулограммы практически были аналогичны дооперационным значениям.

3–7-е сутки послеоперационного периода ознаменовались угнетением активности факторов протромбинового комплекса, увеличением уровня фибриногена в крови, снижением активности АТ-III и фибринолиза.

На 14-е сутки после эндопротезирования сохранялась гиперфибриногемия, происходило восстановление уровня АТ-III, хотя активность последнего еще не достигала предоперационного значения.

Обращает на себя внимание то, что профиль частоты выявляемости положительного этанолового теста у больных основной группы по своему характеру напоминает аналогичный профиль у пациентов с адаптационной реакцией системы гемокоагуляции на локальную гипоксию.

Таким образом, у больных коксартрозом с помощью функциональной пробы (манжеточной) выявлены два типа реагирования системы гемостаза на локальную гипоксию — адаптационный и дезадаптационный. Тиосульфат натрия обладает способностью усиливать антитромбиновую активность крови у больных с дезадаптационным типом реакции системы гемокоагуляции, что позволяет рассматривать его в качестве препарата, обладающего свойствами адаптогена.

Литература

1. Иконникова Е. И. Применение серосодержащих препаратов для повышения уровня АТ-III у больных ИБС: Методические рекомендации. — Саратов, 1994.
2. Козинец Г. И., Макаров В. А. Исследование системы крови в клинической практике. — М.: Триада-Х, 1997.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999.

ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЭМБОЛИЗМА У ОРТОПЕДИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ХВН

В. В. САБЕЛЬНИКОВ, О. В. ЗЛОБИН, А. И. ПРОКОПЕЦ, Е. К. ШУЛЕПОВА
РНИИТО им. Р. Р. Вредена,
МАПО, отделение сосудистой хирургии, Санкт-Петербург, Россия

Введение. По данным научной литературы, частота венозных тромбозов и ТЭЛА при ортопедических операциях составляет около 50,0% (в том числе фатальной ТЭЛА — 2,4%).

Цель исследования: улучшить результаты лечения ортопедических больных с ХВН.

Материал и методы. В нашей клинике за период с 1998 по 2006 гг. наблюдалось 380 пациентов с ХВН и

сопутствующей ортопедической патологией (126 мужчин и 254 женщины в возрасте от 34 до 68 лет).

Диагностика: исследование системы гемостаза у всех больных с ХВН, исследование маркеров тромбофилии у больных, перенесших тромбозы (62), ультразвуковое дуплексное ангиосканирование сосудов (УЗДАС) нижних конечностей у всех больных, рентгеноконтрастная флебография у 6 больных.

Профилактика тромбоэмболизма включала в себя хирургическую коррекцию гемодинамики.

При С2, 3, 4 выполнялась плановая флебэктомия (209 пациентов) с последующей выпиской больных. Ортопедическое вмешательство выполнялось через 1–3 месяца после реабилитации пациента.

При изолированном поражении С2 мы производили сочетанные вмешательства (113 пациентов).

В терапевтическую коррекцию были включены: компрессионная терапия (госпитальный трикотаж или

эластические биндажи) с ранней активизацией, антикоагулянтная терапия, специфическое и неспецифическое лечение тромбофилии, фармакотерапия ХВН всем пациентам на период реабилитации.

Результаты сравнивались с контрольной группой (89 человек), которые были оперированы до 1999 г. по поводу патологии суставов без предварительной консультации ангиохирурга.

Результаты. В основной группе больных в сроки от 2 недель до 3 месяцев выявлен тромбоз глубоких вен различного уровня у 2 пациентов (0,52%), в контрольной группе — у 5 человек (5,61%). Эпизодов ТЭЛА в основной группе мы не наблюдали (0%), в контрольной группе — 9 пациентов (7,81%), летальных — 3.

Выводы. Принятая в нашей клинике тактика ведения больных с ХВН позволила значительно снизить количество тромботических осложнений при ортопедических операциях.

РЕЗУЛЬТАТЫ СРЕДНЕОТДАЛЕННОГО КОНТРОЛЯ МНО У ПАЦИЕНТОВ С МЕХАНИЧЕСКИМИ ПРОТЕЗАМИ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

Н. Н. САМСОНОВА, А. Г. КЛИМОВИЧ, М. Г. ПЛЮЩ, Н. С. ФОКИНА,
С. И. БАБЕНКО, М. Р. МУРАТОВ, И. З. БЕРИДЗЕ

Лаборатория гематологии отдела клинической лабораторной диагностики —
отделение неотложной хирургии приобретенных пороков сердца НЦ ССХ
им. А. Н. Бакулева РАМН, Москва

Цель исследования: анализ среднеотдаленных результатов контроля МНО у пациентов с механическими протезами клапанов сердца.

Материалы и методы. Обследовано 45 пациентов в возрасте $51,04 \pm 9,38$ лет. Основной причиной формирования порока был ревматизм. Митральный протез был имплантирован в 34 случаях, аортальный протез — в 10. В послеоперационном периоде всем пациентам был назначен пожизненный прием непрямых антикоагулянтных препаратов и рекомендован регулярный контроль свертывающей системы крови с поддержанием показателей МНО на уровне 2,5–3,0. Среднеотдаленные сроки наблюдения составили от 6 месяцев до 3 лет.

Для оценки эффективности поддерживающей терапии исследовали МНО, АЧТВ, РТ-фибриноген, агрегацию тромбоцитов, морфологический анализ крови, ЛДГ и ее фракции, уровень билирубина и креатинина.

Результаты. Результаты исследования гемостаза в целом по группе обнаружили недостаточную степень

антикоагуляции в сравнении с рекомендуемыми пределами: средние значения МНО составили $2,02 \pm 0,021$, Квик — $54,2 \pm 5,66\%$, НО АЧТВ — $1,29 \pm 0,02$, РТ-фибриноген — $4,3 \pm 4,7$ г/л и количество тромбоцитов — $209,5 \pm 35,4 \cdot 10^9$ /л. Внутри группы отмечено следующее перераспределение: МНО от 1 до 1,6 (1 группа) — у 26,66%, от 1,60 до 2,9 — у 44,44% пациентов, от 3,0 до 4,2 (3 группа) — 28,9%. Клиническое обследование показало, что в группе 1 возрастал индекс анемизации (гематокрит \times количество ретикулоцитов), увеличивалась активность ЛДГ и ее сердечной фракции, в группе 3 возрастал индекс лейкоцитарной интоксикации и печеночная фракция ЛДГ. В группе 2 изменение исследуемых показателей было менее выражено. Можно полагать, что для обследуемой группы больных значения МНО от 2,0 до 3,0 являются оптимальными. Обращает на себя внимание большой процент пациентов с недостаточной степенью антикоагуляции, что может приводить к снижению эффективности оперативного лечения приобретенных пороков сердца.

**КОАГУЛЯЦИОННЫЕ НАРУШЕНИЯ
КАК ЧАСТЬ СИНДРОМА СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА
У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ПЕРИТОНИТОМ**

О. И. СВЕТЛИЦКАЯ, Е. Г. ОГАНОВА, Г. В. ИЛЮКЕВИЧ

**Белорусская медицинская академия последипломного образования
ЛПУ 9 ГКБ, г. Минск**

Летальность при остром распространенном перитоните (ОРП) продолжает оставаться на высоком уровне и составляет, по данным большинства авторов, от 27 до 40%, достигая 70% и более при развитии синдрома полиорганной недостаточности (СПОН). В основе развития и прогрессирования СПОН лежит синдром системного воспалительного ответа (ССВО) организма, обусловленный массивным выбросом в кровоток медиаторов воспаления, главным образом провоспалительных цитокинов, и изменениями в системе гемостаза по типу активации ДВС крови. Для проведения эффективной интенсивной терапии и прогнозирования динамики развития патологического процесса необходимо использование надежных маркеров, позволяющих делать выводы о тяжести состояния пациента, обусловленного ССВО. Определение уровня цитокинов, отдельных белков острой фазы воспаления (сывороточного ферритина — СФ), традиционно используемых для этих целей при проведении научных исследований, остаются недоступными для практикующего врача. Выбор наиболее информативных лабораторных показателей, отражающих глубину нарушений гемостаза и коррелирующих с выраженностью ССВО, представляет несомненный интерес для клинической практики.

Цель исследования. Оценить информативность показателей, характеризующих состояние системы гемостаза, и возможность их использования в качестве маркеров тяжести ССВО у больных с острым распространенным перитонитом.

Материал и методы. Всего обследовано 86 больных (54 мужчины и 32 женщины) с ОРП, находившихся на лечении в отделении реанимации 9 ГКБ г. Минска. Средний возраст пациентов составил $48,5 \pm 3,6$ года. Критерии включения пациентов в исследование: верифицированный диагноз ОРП, возраст старше 18 лет и моложе 80 лет, отсутствие тяжелых сопутствующих заболеваний, конкурирующих с ОРП по влиянию на тяжесть состояния больного, а также наличие минимум 3 из 4 критериев ССВО. Основными причинами развития ОРП были: прободные язвы желудка и двенадцатиперстной кишки — 34 (39,5%), прободные язвы тонкой кишки — 5 (5,8%), деструктивный аппендицит — 32 (37,2%), деструктивный холецистит — 4 (4,7%), ранения брюшной полости с повреждением полого органа — 7 (8,1%), нагноившаяся киста поджелудочной железы с прорывом в брюшную полость — 4 (4,7%). По

стадиям заболевания больные распределились следующим образом: реактивная фаза диагностирована у 27 пациентов (31,4%), токсическая — у 43 (50%) и терминальная — у 16 (18,6%).

Исследование гемостаза включало как скрининговые тесты: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ) по Квику, тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена по Клауссу, так и определение активности антитромбина III (АТ-III) методом хромогенных субстратов с использованием набора «АТ-III — LIATEST», количественное определение D-димеров набором «D-Dimer — LIATEST» на автоматическом анализаторе гемостаза «STA Compact» фирмы «STAGO Diagnostica», Франция.

В качестве контроля использовали результаты, полученные на коммерческой контрольной плазме фирмы «STAGO Diagnostica», Франция. Оценивалось количество тромбоцитов. Сывороточный ферритин (СФ) определяли иммуноферментным методом, используя наборы «ИФА-ферритин» (Институт биоорганической химии НАН Беларуси). Уровни фактора некроза опухолей (ФНО- α) и интерлейкина-8 (ИЛ-8) определялись иммуноферментным методом с использованием тест-систем ТОО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Тяжесть состояния больных после операции определяли по основным клинико-лабораторным показателям и выражали в баллах по шкале оценки острых и хронических функциональных изменений — Acute Physiological and Chronic Health Evaluation (APACHE II). Контроль — 20 доноров, сопоставимых по возрасту и полу с обследуемыми.

Проведен математический анализ полученных данных с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2000.

Результаты. Полученные в ходе исследования данные представлены в таблице и свидетельствуют о том, что более 80% больных с ОРП имеют изменения в системе гемостаза по типу активации ДВС в первые сутки послеоперационного периода. Принятый для большинства отделений интенсивной терапии набор скрининговых тестов (АЧТВ, ПВ, ТВ, фибриноген) либо не определял изменений в системе гемостаза у больных с ОРП, либо выявлял тенденции к гипер- или гипокоагуляционному сдвигу, которые нельзя было интерпретировать однозначно. Так, независимо от фазы перитонита, в первые сутки послеоперационного периода нормальные

Параметры гемостаза и уровни ферритина, фактора некроза опухолей, интерлейкина-8 в первые сутки послеоперационного периода у больных с острым распространенным перитонитом в зависимости от фазы (n = 86)

Показатель	Контроль	Реактивная фаза (n = 29)	Токсическая фаза (n = 44)	Терминальная фаза (n = 13)
АЧТВ (норма 27–37 сек.)	31,0	29,4 ± 2,1	32,6 ± 6,1	51,9 ± 3,0
ПВ (норма 70–120%)	88	82	74	65
ТВ (норма 14–16 сек.)	15,0	13,9 ± 1,2	14,2 ± 2,3	18,8 ± 2,8
Фибриноген (норма 2–4 г/л)	3,1	6,49 ± 1,4	8,2 ± 1,8	5,6 ± 4,1
Д-димеры (норма до 0,5 нг/мл)	0,3	2,6 ± 1,9	4,09 ± 2,7	9,8 ± 1,8
АТ-III (норма 80–120%)	92	80	75	64
Тромбоциты (норма 150–320 · 10 ⁹ /л)	230	142 ± 11,9	113 ± 6,4	90 ± 8,7
СФ, мкг/мл (муж.)	98,2 ± 4,8	319 ± 57,3	756 ± 16,4	1100 ± 68
СФ, мкг/мл (жен.)	42,5 ± 5,1	265 ± 57,3	676 ± 16,4	982 ± 67,6
ФНО-α, пг/мл	64,0 ± 10,4	1410 ± 78	1906 ± 124	1788 ± 86
ИЛ-8, пг/мл	22,0 ± 8,6	54 ± 5,6	282 ± 37	394 ± 42
АРАСНЕ II, баллы	<10	10,2 ± 1,4	13 ± 1,7	23 ± 2,5

показатели АЧТВ, ПВ и ТВ имели место соответственно у 72%, 68%, 74% обследованных пациентов. Гиперфибриногенемия была отмечена у 61,6%, гипофибриногенемия — у 5% больных, нормальный уровень фибриногена имел место у 33,4% пациентов. В свою очередь, повышенный уровень D-димеров, снижение активности антитромбина III и снижение количества тромбоцитов у обследованных больных выявлены у 90,5%, 86,4%, 77,3% соответственно, что указывало на активацию ДВС крови.

У всех пациентов с ОРП в первые сутки послеоперационного периода определены повышенные уровни сывороточного ферритина, ФНО-α и ИЛ-8. Степень повышения зависела от фазы заболевания и соответствовала оценке тяжести состояния больных в баллах по шкале АРАСНЕ II.

Выводы:

1. Более 80% больных с ОРП имеют изменения в системе гемостаза по типу активации ДВС в первые сутки послеоперационного периода.

2. Уровень D-димеров, активность антитромбина III и количество тромбоцитов являются наиболее информативными показателями, указывающими на нарушения в системе гемостаза у больных с острым распространенным перитонитом в послеоперационном периоде.

3. Между степенью коагуляционных нарушений и уровнем ФНО-α, ИЛ-8, СФ, тяжестью состояния больных (оценка в баллах по шкале АРАСНЕ II) отмечена четкая прямая зависимость, что дает возможность использовать показатели, характеризующие состояние системы гемостаза, в качестве маркеров тяжести ССВО у больных с острым распространенным перитонитом.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИБС, ПРИНИМАЮЩИХ АСПИРИН, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ РЕЦЕПТОРА ФИБРИНОГЕНА (PLA1/A2 GPIIa) И ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ 1 (A-842G COX-1)

О. В. СИРОТКИНА¹, О. А. КАТКОВА², П. С. ЛАГУТА², А. Н. СТОЛЯРОВА¹, Е. А. ЖЕЛЕЗНЯК¹,
А. Б. ДОБРОВОЛЬСКИЙ², Е. П. ПАНЧЕНКО²

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Российской Академии Наук, Санкт-Петербург, Россия

² Институт кардиологии им. А. Л. Мясникова Российского Кардиологического Научно-производственного Комплекса, Москва, Россия

Введение. Аспирин в настоящее время является стандартным антиагрегационным препаратом, однако его эффект в ряде случаев может быть недостаточным — у пациентов наблюдается резистентность к препарату. Термин «аспирин-резистентность» используется, чтобы описать клинические ситуации, включающие в себя неспособность аспирина, несмотря на его регулярный прием: 1) предотвращать тромботические осложнения; 2) удлинять время кровотечения; 3) ингибировать синтез тромбоксана А₂; 4) производить ожидаемый эффект на один или более *in vitro* тестов, отражающих функциональную активность тромбоцитов. При этом число пациентов, у которых наблюдается аспиринопорезистентность, может достигать 24–35% и даже 57%. Развитие аспиринопорезистентности включает в себя несколько механизмов. Во-первых, снижение биодоступности препарата, его неадекватная доза или конкуренция с другими нестероидными противовоспалительными препаратами; второй причиной может быть усиление функции тромбоцитов, в том числе при гиперхолестеринемии, после перенесенного инфаркта миокарда, при нестабильной стенокардии, после кардиохирургических манипуляций, при курении; и наконец третья причина аспиринопорезистентности — генетическая. В числе первых кандидатов следует назвать мутацию гена GPIIa субъединицы рецептора PIIb/IIIa — Leu33Pro. Аллельный вариант 33Pro, или, как его еще называют, PLA2 полиморфизм, ассоциирован с возрастом агрегационной способности тромбоцитов. Следующий ген COX-1 кодирует мишень для аспирина — циклооксигеназу 1. В этом гене найдены пять нуклеотидных замен, которые формируют гаплотип, модулирующий эффект аспирина на агрегацию тромбоцитов. Статистически значимый вклад в формирование гаплотипа, ассоциированного с аспиринопорезистентностью, вносит промоторный полиморфизм COX-1, заключающийся в замене A-842G.

Цель исследования: проанализировать изменение агрегационной активности тромбоцитов у больных стабильными проявлениями ИБС на фоне антиагрегационной терапии аспирином в зависимости от генотипов PLA1/A2 GPIIa и A-842G COX-1.

Материалы и методы. В исследование вошли больные стабильными проявлениями ИБС (153 человека, средний возраст 61 ± 1 год), наблюдавшиеся в Институте кардиологии им. А. Л. Мясникова Российского Кардио-

логического Научно-производственного Комплекса. Для анализа эффективности антиагрегационной терапии всем пациентам проводили исследование степени агрегации тромбоцитов (%) при индукции арахидоновой кислотой и АДФ (1 мкМ и 10 мкМ) до начала терапии аспирином, через 10 дней, 1 месяц и 6 месяцев терапии. Детекцию генетических вариантов PLA1/A2 GPIIa и A-842G COX-1 проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом, используя эндонуклеазы MspI и MhII, соответственно.

Результаты. Генетические варианты PLA1/A2 GPIIa и A-842G COX-1 были определены у 151 больного. Частоты генотипов составили: 73%, 24% и 3% для PLA1/A1, PLA1/A2 и PLA2/A2 GPIIa; 93% и 7% для AA и AG COX-1, соответственно. В исследованной группе не было выявлено гомозиготных носителей A-842G COX-1. Данное распределение генотипов соответствует европейской популяции. Мы наблюдали более эффективное снижение степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (АДФ 1 мкМ) через 10 дней после начала терапии аспирином у носителей PLA2-аллеля гена GPIIa (генотипы PLA1/A2 и PLA2/A2) по сравнению с пациентами, имеющими «дикий» генотип PLA1/A1: 1,41 ± 0,32% и 2,73 ± 0,36%, соответственно (p = 0,03). Одновременно была показана тенденция к более высокой АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (АДФ 10 мкМ) на фоне приема аспирина в течение 10 дней у носителей полиморфизма A-842G COX-1 (AG генотип по сравнению с AA генотипом): 14,25 ± 3,23% и 10,55 ± 0,99%, соответственно (p = 0,09). Однако в дальнейшем эти эффекты пропадали, и степень агрегации не отличалась у больных с различными генотипами GPIIa и COX-1 через 1 и 6 месяцев приема аспирина. При индукции агрегации тромбоцитов арахидоновой кислотой никаких различий выявлено не было — при приеме аспирина агрегация эффективно снижалась независимо от исследуемых генетических вариантов.

Выводы: несмотря на то, что степень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов, принимающих аспирин, может быть различной в зависимости от генотипов PLA1/A2 GPIIa и A-842G COX-1, нельзя однозначно назвать эти генетические варианты факторами, определяющими индивидуальную чувствительность больных к аспирину.

ОЦЕНКА АГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ У БОЛЬНЫХ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Е. Г. СМЕРТИНА, В. В. ПОТЫЛИЦЫНА, В. Г. ИОНОВА
ГКБ № 6, Красноярск; ГУ НИИ неврологии РАМН, Москва

Цель: изучение антиагрегационного потенциала сосудистого эндотелия с использованием функциональной «манжеточной» пробы («МП») у больных в динамике острого ишемического инсульта (ОИМК).

Материалы и методы. Обследовано 19 человек (средний возраст $55,2 \pm 5,7$ лет, 12 мужчин и 7 женщин) в 1-е и 14-е сутки ОИМК и 14 здоровых людей. Исследовали активность фактора Виллебранда (vWf), спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов (АТ) с использованием аденозиндифосфорной кислоты в низких (АДФ 0,1 мкМ) и высоких дозах (АДФ 5 мкМ) с оценкой радиуса тромбоцитарных агрегатов и учетом максимального светопропускания.

Результаты. У больных с ОИМК vWf превышал контроль на 32% ($p < 0,001$). В ответ на «МП» не отме-

чено статистически значимых изменений как спонтанной АТ, так и индуцированной высокими дозами АДФ. При воздействии низких доз индуктора выявлено достоверное увеличение АТ у 74% больных на 14-е сутки ОИМК, что свидетельствует о снижении антиагрегационного резерва сосудистой стенки в условиях гиперпродукции фактора Виллебранда и повышения чувствительности тромбоцитов к действию пороговых доз агонистов агрегации.

В группе контроля подобного эффекта не наблюдалось.

Выводы: установлена более высокая диагностическая ценность для оценки антиагрегационного потенциала сосудистой стенки исследования АТ с низкой дозой индуктора при проведении «МП».

МНОГОСОСУДИСТОЕ ПОРАЖЕНИЕ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

Н. В. СОЛОВЬЕВА, Н. Н. БУРОВА
ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова, Санкт-Петербург

Цель исследования: установить особенности течения острого коронарного синдрома (ОКС) у больных с многососудистым поражением коронарного русла.

Материал и методы. Обследовано 65 пациентов с ОКС, которым в первые 72 часа заболевания выполнена коронароангиография. По результатам ангиографического исследования пациенты разделены на две группы: I группа — 58 больных с поражением двух и более коронарных артерий — МСП (43 муж., 15 жен., средний возраст $58,95 \pm 1,24$ года) и II группа — 7 пациентов с однососудистым поражением (4 муж., 3 жен., средний возраст $50,29 \pm 3,11$ лет). Среди больных I группы у 6 был Q инфаркт миокарда (ИМ), у 26 — nQ ИМ и у 26 больных — нестабильная стенокардия; в группе контроля — 2 больных с нестабильной стенокардией, 3 — с nQ ИМ, и 2 — с Q ИМ. Проанализированы анамнестические и клинические данные, а также результаты лабораторных и инструментальных исследований.

Результаты. Сравнительный анализ частоты встречаемости отобранных признаков в группах позволил выявить достоверные различия. Установлено, что возраст больных с многососудистым поражением был достоверно старше, чем у больных группы контроля ($p = 0,03$). Дли-

тельность предшествующего развитию ОКС ишемического прекодиционирования миокарда составила $61,12 \pm 8,86$ мес. у больных I группы и $11,94 \pm 11,04$ мес. — в группе контроля ($p = 0,003$). Анамнез стенокардии более 2 месяцев прослежен у 81% исследуемых в I группе и у 14% — во II ($p < 0,001$). У 88% больных I группы и 28,5% — во II установлена артериальная гипертензия в анамнезе ($p < 0,001$). Исследуемые группы достоверно различались по уровню АД на момент исследования («рабочее» систолическое АД у больных I группы составило $142,53 \pm 2,29$ мм рт. ст., у пациентов II группы — $130,0 \pm 3,78$ мм рт. ст. ($p = 0,02$); максимальное систолическое АД — $194,22 \pm 4,86$ мм рт. ст. и $147,14 \pm 11,69$ мм рт. ст. соответственно ($p = 0,006$); максимальное диастолическое АД — $108,19 \pm 2,65$ мм рт. ст. и $87,14 \pm 3,6$ мм рт. ст. ($p < 0,001$)). По данным эхокардиографического исследования, в группе больных с многососудистым поражением у 43,1% пациентов выявлены признаки замедления релаксации миокарда, в группе контроля таких пациентов не было.

Экстренная реваскуляризация миокарда выполнена 72% больных I группы (42,9% больных выполнена ангиопластика со стентированием, 57,1% — аорто-коронарное шунтирование) и 57,1% больных с однососудистым

поражением (ангиопластика коронарной артерии со стентированием).

Выводы. Для больных с острым коронарным синдромом на фоне многососудистого поражения коронар-

ных артерий характерно наличие длительного анамнеза стенокардии (более 2-х лет), длительно текущая, не корригированная АГ, с развитием замедления релаксации миокарда левого желудочка.

ПОДХОДЫ К ПРЕДУПРЕЖДЕНИЮ РЕСТЕНОЗОВ ПОСЛЕ АНГИОПЛАСТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ ЛОКАЛЬНОГО УГЛЕВОДНОГО ОКРУЖЕНИЯ ЗОНЫ СОСУДИСТОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Е. Г. ТИШЕНКО, А. Д. ТУРАШЕВ, А. В. МАКСИМЕНКО

Институт экспериментальной кардиологии, ФГУ Российский Кардиологический
Научно-Производственный Комплекс Росздрава, Москва

Рестеноз является основным осложнением успешно и длительно применяемой чрезкожной транслюминальной ангиопластики. Повышенный синтез экстрацеллюлярного матрикса, ремоделирование сосудистой стенки, как и адгезия к ней тромбоцитов и образование тромба после повреждения поверхности сосуда при стентировании/катерировании, являются наиболее важными факторами развития рестеноза.

Повреждение сосудов баллонным катетером у животных ведет к резкому повышению содержания гиалуронана в этой зоне. Его особенно много вокруг пролиферирующих и мигрирующих гладкомышечных клеток артерий, где растет содержание ассоциирующегося с ним версикана (хондроитинсульфат протеогликан). Гиалуронан и версикан, избыточно представленные в рестенозированных участках сосудов, образуют высокомолекулярные гидрофильные комплексы. Они обычно гидратируются и вызывают тканевый отек. Благодаря этому, в частности, происходит быстрое распространение рестенозного поражения. (Гиалуронан влияет как на гиперпластическую, так и на ремоделирующую фазу развития рестеноза.) Полагают, что 15–30% частота стенозных рестенозов (в течение 6 месяцев с их установки) обусловлена скорее повышенным накоплением экстрацеллюлярного матрикса, чем клеточной пролиферацией. Прямое ферментативное уменьшение плотности внеклеточного матрикса после стентирования благоприятно для снижения частоты и степени рестенозирования. В качестве подобного производного перспективно использовать в ходе процедуры стабилизированную форму гиалуронидазы.

Заметим, что уменьшение неоинтимального образования в пораженной баллонным катерированием аорте крыс достоверно наблюдалось после введения небольших фрагментов гиалуронана (состоящих из 4–16 звеньев). Такие данные обращают внимание на фрагменты гиалуронана как на привлекательный объект для предупреждения рестенозов после ангиопластики. Заманчиво их эндогенное образование в месте поражения в результате локального введения экзогенной гиалуро-

нидазы. В ее роли интересно апробировать производное этого биокатализатора, модифицированное хондроитинсульфатом. Геном человека содержит шесть гиалуронидазных генов. Единственной представленной в плазме формой является 54 кДа гиалуронидаза, имеющая заметную гомологию с гиалуронидазами из тестикул быка и пчелиного яда. Общедоступность и клиническая разрешенность к использованию превращают тестикулярную гиалуронидазу быка в перспективный объект биомедицинского изучения.

Было обнаружено, что с увеличением степени модификации поверхностных аминогрупп гиалуронидазы декстраном ее эндогликозидазная активность достаточно монотонно снижается по мере увеличения деформирующего воздействия модификатора. Резистентность же к гепариновому ингибированию фермента изменялась весьма резко: при степени модификации более 70% наблюдалось существенное падение ингибируемости. Наиболее полно/глубоко модифицированные производные (90–100% степени модификации) практически не ингибировались гепарином. Эти данные указывали на регуляторное влияние полимерных углеводных производных на эндогликозидазную функцию биокатализатора.

Ковалентное многоточечное присоединение к нему сополимерных гликанов (гепарина и дерматансульфата), содержащих остаток идуроновой кислоты, $\alpha(1-3)$ и $\alpha(1-4)$ гликозидную связь, инактивировало биокатализатор. Простые же полимерные глюкоз- (гиалуронозная кислота) и галактоз- (хондроитинсульфат) аминокликанов сохраняли эндогликозидазную активность благодаря сходной схеме образования стабилизирующих водородных связей экваториальными ОН-группами гликана $\beta(1e-3e)$ и $\beta(1e-4e)$. Наибольшую стабильность эндогликозидазной активности продемонстрировало производное гиалуронидаза-хондроитинсульфат. Таким образом, тонкое влияние структурных блоков гликозаминогликанов аллострически определяет результирующий эффект их взаимодействия с гиалуронидазой.

Настоящее исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ грантом 06-04-48058.

БИОСПЕЦИФИЧНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ КОМПЛЕКСОВ МЕЖДУ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ГЕПАРИНАМИ И ХИТОЗАНАМИ

С. А. ТОЛСТЕНКОВ*, Н. Н. ДРОЗД*, В. А. МАКАРОВ*, Г. Е. БАННИКОВА**, В. П. ВАРЛАМОВ**

* Гематологический научный центр РАМН, Москва

** Центр «Биоинженерия» РАН, Москва

Экстракорпоральное кровообращение (ЭКК) при операциях на открытом сердце, программный гемодиализ при заместительной почечной терапии обычно проводятся с нефракционированным гепарином (НФГ). В конце ЭКК действие гепарина нейтрализуют сульфатом протамина. При этом быстро снижаются антифактор Ха (аХа) и антифактор Па (аПа) активности, а также укорачивается время свертывания плазмы в тесте активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Целью работы является оценка возможности использования хитозана в качестве антидота для нейтрализации антитромбиновой активности НМГ. Образцы НМГ с молекулярной массой (ММ) от 3,4 до 6,1 кДа получали с помощью деполимеризации НФГ из легких крупного рогатого скота хитинолитическим ферментным комплексом в лаборатории инженерии ферментов Центра «Биоинженерия» РАН. Образцы хитозана с СД 61–85% и ММ 4–21 кДа получали в той же лаборатории. Антикоагулянтную активность образцов НМГ оценивали по их способности ингибировать некоторые сериновые протеиназы свертывающей системы крови, определяя активность против тромбина (аПа) и активированного фактора Ха по гидролизу хромогенных субстратов. При определении нейтрализации АК эффекта также использовали гид-

ролитическую активность протеиназ по отношению к хромогенным субстратам.

В результате исследования отмечено наличие пиков преципитации, а следовательно и комплексов, при проведении электрофореза НМГ как с хлоридом цетилпиридиния, так и с классическим антидотом для гепаринов — сульфатом протамина, а также и с хитозанами. Антитромбиновая активность образцов НМГ достигала 69–260 ЕД/мг, активность против фактора Ха была 82–290 ЕД/мг. Показана умеренная положительная связь между ММ, аПа и аХа образцов НМГ, с одной стороны, и высотой пиков преципитации с хитозанами, с другой.

Хитозаны с СД 85% и ММ 4, 6 и 21 кДа (Х2, Х3, Х4) демонстрируют тесную положительную связь между высотой пиков преципитации и аХа активностью НМГ. Хитозаны с ММ 21 кДа и СД 85%, 70% и 61% (Х4, Х5 и Х6) также демонстрируют тесную положительную связь между высотой пиков преципитации и аХа активностью НМГ. Образец Х7 (ММ — 16 кДа, СД — 91%) показал равную с СП способность восстанавливать скорость амидолитической реакции до 0,140–0,148 ДА/мин.

Таким образом, для нейтрализации антитромбиновой активности НМГ можно использовать хитозаны с ММ не менее 6 кДа и СД более 90%.

СТАБИЛИЗАЦИЯ ГИАЛУРОНИДАЗЫ ДЛЯ СОКРАЩЕНИЯ РАЗМЕРА ПОРАЖЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

А. Д. ТУРАШЕВ, Е. Г. ТИШЕНКО, А. В. МАКСИМЕНКО

Институт экспериментальной кардиологии, ФГУ Российский Кардиологический

Научно-Производственный Комплекс Росздрава, Москва

Инфаркт миокарда сопровождается отеком, в развитии которого заметную роль играет гиалуронан, интенсивно гидратирующийся при этом. Деструкция гиалуронана гиалуронидазой приводит к изгнанию воды, снижению плотности углеводной окологлобулярной оболочки. Это способствует улучшению тканевого потока для лекарственных средств и нутриентов, а также снижает размер поражения *in vivo*. Более того, отек миокарда, сопровождаемый заметными потерями жидкости в микроциркуляции, ведет к уплотнению ее внеклеточного матрикса, появлению эффекта отсутствия протока (no reflow) и сердечной дисфункции (при ишемии,

гипертонии, сепсисе, ревазуляризации). Этим обуславливается важность адекватного восстановления кровотока в макро- и микроциркуляторной системе селективным ферментативным воздействием на тромб и углеводное клеточное окружение. Для осуществления последнего важно биотехнологическое получение и биомедицинское исследование стабилизированных форм гиалуронидазы. Ориентировочно, 25% пациентов с восстановленным кровотоком в эпикардиальной инфаркт-связанной артерии (TIMI Grade III) не имеет реперфузии миокарда на тканевом уровне. Снижение интенсивности миокардиальной перфузии (тканевого

потока) обуславливает ухудшенный прогноз и высокий риск смертности пациентов с острым инфарктом миокарда в сравнении с группой нормальной перфузии тканей. Ухудшение миокардиальной тканевой перфузии (после успешного тромболизиса) связано с нарушениями в капиллярной сети из-за ишемии. Такая ситуация подчеркнула актуальность изучения регуляции микроциркуляции тканевого потока.

Одним из регуляторов тканевой проницаемости в организме выступает фермент гиалуронидаза. В организме ее функционирование осуществляется в условиях гликозаминогликанового микроокружения и пока весьма мало изучено. Следует представлять, что высокая потребность организма в значительном уровне гиалуроновой кислоты (суточно от 10 до 100 мг гиалуронана оборачивается через систему циркуляции) обеспечивает наличие многочисленных ингибиторов гиалуронидазы. Полагают, что разнообразие и повсеместность гиалуронидазных ингибиторов существенно выше, чем самих гиалуронидаз. Ковалентная модификация гиалуронидазы хондроитинсульфатом придавала ферменту наибольшую резистентность к гепариновому ингибированию в результате сходства экваториальной ориентации ОН-групп с таковой у гиалуроновой кислоты. Сульфатирование гликановой цепи, повышая ее жесткость, затрудняло стабилизирующее воздействие на гиалуронидазу, что было продемонстрировано в модельных экспериментах с декстраном и декстрансульфатом. Влияние хондроитинсульфата на эндогликозидазную

активность гиалуронидазы носило аддитивный характер и не затрагивало напрямую небольшой, лежащий на дне щели участок активного центра биокатализатора. Сополномерное гликозаминогликановое микроокружение гиалуронидазы, содержащее остаток идурановой кислоты, $\alpha 1-3$ и $\alpha 1-4$ гликозидную связь, инактивирует эндогликозидазную активность фермента, тогда как простые полимерные глюкоз- и галактозаминогликаны (гиалуронан и хондроитинсульфат, соответственно) способствуют ее проявлению благодаря сходной схеме соединения звеньев $\beta(1e-4e)$, $\beta(1e-3e)$. Выяснение тонкого характера этих взаимодействий требует исследования влияния на гиалуронидазу гликозаминогликановых фрагментов и их производных. Проведение сравнительного исследования гликирования нативной и ковалентно присоединенной к хондроитинсульфату бычьей тескулярной гиалуронидазы показало, что галактоза инактивирует нативный фермент, что особенно ярко проявляется при воздействии смеси моносахаридов (из глюкозы и галактозы). Конъюгирование гиалуронидазы с хондроитинсульфатом стабилизирует биокатализатор, существенно снижая инактивирующие эффекты гликирования и нивелируя вовсе денатурацию галактозой. Стабилизация гиалуронидазного эндогликозидирования важна для понимания механизма его молекулярного регулирования и снижения последствий острых сердечно-сосудистых поражений, таких как инфаркт миокарда.

Настоящее исследование поддержано грантом РФФИ 06-04-48058.

МАРКЕРЫ NO-СИНТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

Н. А. ФИЛИППОВА, Л. А. КАМИНСКАЯ

ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Росздрава, Санкт-Петербург

Исследования патофизиологической роли продуктов NO-синтазной активности являются одним из наиболее активно изучаемых направлений в современной медицине. В настоящее время роль данного метаболита в генезе аллергического повреждения дыхательных путей, как и значение его определения в оценке особенностей воспалительного процесса, остается не до конца ясной. В многочисленных исследованиях показано повышение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе, обусловленное активацией провоспалительными цитокинами индуцируемой NO-синтазы в эпителиальных клетках дыхательных путей и клетках-участниках воспаления. В то же время содержание продуктов NO-синтазной активности в крови в значительной степени определяется активностью эндотелиальной (конститутивной) синтазы и при ряде заболеваний коррелирует со степенью легочной гипертензии и выраженностью ремоделирования сосудистого русла.

Цель исследования: изучение изменений эндотелиальной секреции продуктов NO-синтазной активности у больных бронхиальной астмой.

Материал и методы. Обследовано 25 больных бронхиальной астмой и 22 практически здоровых лица, 5 из которых в прошлом имели аллергические реакции (нейродермит, крапивница, аллергический ринит). Определялся суммарный уровень нитритов и нитратов (NOx) в сыворотке венозной крови методом Гриса.

Результаты. Выявлено достоверное снижение уровня NOx сыворотки крови у больных БА по сравнению с контрольной группой (5,96 и 12,99 ммоль/л соответственно). Высокий уровень NOx ($>16,07$ ммоль/л) отмечался почти у половины здоровых лиц (45,5%), в то время как низкий ($<6,9$ ммоль/л) — всего в 9% случаев. В группе больных БА наблюдалось обратное соотношение: 8,3% пациентов имели высокий и 41,7% — низкий уровень NOx. Сравнительный анализ показателя внутри

контрольной группы показал, что наличие аллергических реакций в анамнезе (в том числе в раннем детстве) ассоциирован с более низким уровнем NOx (12,7 ммоль/л по сравнению с 17,9 ммоль/л в группе здоровых, никогда не отмечавших аллергических реакций). Таким образом, наличие аллергических реакций у практически здоровых лиц ассоциируется с умеренным нарушением

синтеза оксида азота эндотелием, что может быть связано с генетически обусловленным снижением активности эндотелиальной NO-синтазы. Более выраженное снижение, имеющее место у больных бронхиальной астмой, может являться причиной развития прогрессирующего ремоделирования сосудов системы легочной артерии и развития хронического легочного сердца.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА КАЧЕСТВА АПТВ-НАБОРОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СОДЕРЖАНИЯ ГЕПАРИНА В ПЛАЗМЕ

А. И. ШАНСКАЯ, А. П. ПАПАЯН, Н. Н. СТАРИЦЫНА

ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии Росздрава, Санкт-Петербург, Россия

Многие патологические состояния характеризуются активацией процессов свертывания крови и риском повышенного тромбообразования, предотвратить которые позволяет применение антитромботических препаратов. Такие препараты назначаются и дозируются на основании результатов лабораторных исследований. Лабораторный контроль над действием одного из самых широко применяемых антикоагулянтов прямого действия — гепарина основан на использовании в качестве скринингового теста активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ). Однако стандартизация метода далека от завершения. Улучшение качества лабораторного исследования возможно за счет повышения качества как реагента для коагулологического анализа, так и используемого контрольного материала.

В данном исследовании проведена экспериментальная проверка качества АПТВ-наборов, выпускаемых ФГУ РНИИГТ Росздрава ($n = 6$), в соответствии с ГОСТ Р 51352-99 «Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Методы испытаний». В качестве контрольного материала использовались лиофилизированные пулы нормальной плазмы ($n = 6$), способ получения которых также разработан в ФГУ РНИИГТ

Росздрава. Все исследования проводились с применением унифицированного метода определения АПТВ.

При проведении теста на «линейность» использовали пулы нормальной плазмы, к которым *in vitro* добавляли растворы гепарина в терапевтических пределах (концентрации 1,0; 0,75; 0,5; 0,25 ед./мл). Определено, что зависимость значений АПТВ от содержания гепарина в плазме линейна в логарифмической системе координат. Значения «линейности» для всех концентраций во всех опытах колебались в пределах 93,9–106,4%. Величины достоверности аппроксимации составили 0,9913–0,9972. Коэффициенты вариации во всех случаях не превышали 3,6%. При постановке теста на «открытие» смешивали равные объемы контрольной плазмы и плазмы с содержанием гепарина 0,75 ед./мл. Значения «открытия» определены в пределах 97,5–107,2%. Значения чувствительности, определенные для нулевой пробы и выраженные в значении концентрации гепарина, составили от 0,007 до 0,046 ед./мл.

Проведенное исследование показало высокое качество выпускаемых ФГУ РНИИГТ Росздрава АПТВ-набора и пула нормальной плазмы, которые могут быть использованы для мониторинга гепаринотерапии.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ТРОМБОЗОВ ПРИ СИСТЕМНЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Н. П. ШИЛКИНА

Ярославская государственная медицинская академия

Введение. Гетерогенность механизмов тромбообразования у больных ревматическими заболеваниями (РЗ) предполагает дифференцированные подходы к их фармакотерапии. Первичные и вторичные васкулитные синдромы при ревматических заболеваниях (РЗ) являются природной моделью, позволяющей проследить связь между состоянием сосудистой стенки, системы гемостаза и тромбообразованием.

Материалы и методы. У 324 больных РЗ апробировано лечение предтромботических состояний и тромбо-

зов в зависимости от состояния системы гемостаза. Проведено исследование коагуляционного гемостаза, активности фибринолиза и антикоагуляционных систем, агрегации тромбоцитов, реологических тестов, определение фактора фон Виллебранда, протеинов С и S, антитромбина III (АТ III), антител к кардиолипину (аКЛ), к β_2 -гликопротеину, к эндотелию сосудов, морфологическое исследование, ангиосканирование.

Результаты. У большинства больных имело место напряжение тромбоцитарно-сосудистого гемостаза и

приобретение эндотелиальными клетками прокоагулянтных свойств под влиянием иммунной агрессии с повышением фактора фон Виллебранда и угнетением процессов фибринолиза. Другим патогенетическим звеном является выраженная активация коагуляционного гемостаза с увеличением концентрации растворимых фибринмономерных комплексов (РФМК) и фибриногена, что трактовалось как гиперкоагуляционная фаза синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). РФМК можно считать маркером «предтромботических» состояний. При остром течении процесса развивался типичный синдром ДВС с коагулопатией потребления и геморрагическими осложнениями. В патогенезе тромбозов имело значение снижение уровня антитромбина III. При РЗ встречался синдром множественного микротромбирования (ММТ), который имел отличия от ДВС.

При антифосфолипидном синдроме выявлен патогенетический синергизм IgG аКЛ и антител к β_2 -гликопротеину, в некоторых случаях — синдром гипервязкости. Имеет значение и синдром тромбоемболии.

Изменения тромбоцитарно-сосудистого гемостаза служили показанием для назначения тромбоцитарных дезагрегантов: трентала, тиклида, ралофекта, плавикса при ишемическом и вазоспастическом синдроме любой локализации, трофических язв, дигитальных некрозах,

синдроме ДВС, синдроме гипервязкости, симптоматических эритроцитозах и тромбоцитозах, а также для вторичной профилактики ишемического инсульта. При гиперкоагулопатии и синдроме ДВС назначали антикоагулянты прямого и непрямого действия. Были апробированы зависимые от антитромбина III ингибиторы тромбина — гепарин и низкомолекулярные фракционированные гепарины типа фраксипарина и фракмина. Разработана схема применения непрямого антикоагулянта варфарина с определением допустимого в амбулаторных условиях уровня международного нормализованного отношения (МНО) для профилактики тромбообразования и тромбоэмболических осложнений.

Выводы. Механизм тромбообразования при РЗ неоднороден, выявлена связь между иммунопатологическими нарушениями и развитием атеротромбоза. Механизм тромбообразования при РЗ неоднороден, выявлена связь между иммунопатологическими нарушениями и развитием атеротромбоза. Использование тромбоцитарных дезагрегантов, прямых и не прямых антикоагулянтов показано для лечения предтромботических и тромботических состояний, их первичной и вторичной профилактики.

(Мы продолжим печатать материалы по теме конференции в следующем номере журнала.)

Мы сделаем Вашу рукопись книгой!



Издательско-полиграфическая компания
КОСТА

СПб, Новочеркасский, 58 (812) 445-1002
www.kostaprint.ru e-mail: kosta-prn@peterlink.ru

Издательско-полиграфический отдел фирмы "КОСТА" с 1993 года занимается подготовкой и изданием книг. За эти годы мы приобрели большой опыт подготовки специальной, и в частности, медицинской литературы. Среди подготовленных нами книг — работы в области кардиологии, неврологии, хирургии, генетики и других областях медицины.

Мы будем рады помочь Вам подготовить к печати юбилейный сборник, монографию, брошюру, методические рекомендации, автореферат. Собственная полиграфическая база позволяет оперативно отпечатать любую полиграфическую продукцию.

Кроме того, наши дизайнеры разработают для Вас визитки, наклейки, рекламные листовки, обложки книг. Не тратьте драгоценное время Ваших специалистов — приходите к нам.

Сделать Вашу рукопись книгой — наша специальность.

НОВЫЕ ПРОГРАММИРУЕМЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА

А. В. БЕЗРУКОВ, Е. Н. ОВАНЕСОВ
НПП «Техномедика»

В настоящее время наиболее распространенные методы оценки плазменного гемостаза в КДЛ — выполнение коагулологических тестов. Коагулологические, коагуляционные, или так называемые клоттинговые (англ. «clot» — сгусток), методы основаны на измерении промежутка времени с момента внесения реагента, запускающего каскад свертывания плазмы крови, до момента коагуляции — образования фибринового сгустка (нитей фибрина). В зависимости от присутствия в реакционной пробе тех или иных активаторов или ингибиторов, добавляемых при проведении исследования, оценивают активность отдельных звеньев (путей) плазменного гемостаза. Для измерения времени образования сгустка в коагулологических тестах используются приборы, называемые анализаторами свертывания крови, анализаторами показателей гемостаза или коагулометрами.

Клоттинговые методы являются самыми распространенными при диагностике системы гемостаза, поскольку обладают непревзойденными на сегодняшний день преимуществами: простотой и легкостью выполнения методик, стандартизованностью методик, коротким временем выполнения, доступностью специализированных наборов реагентов, низкими затратами на исследование.

НПП «Техномедика» зарегистрировала серию вновь разработанных коагулометров под названием «Анализаторы показателей гемостаза» в следующих исполнениях:

- двухканальный АПГ2-02;
- двухканальный со встроенным принтером АПГ2-02П;

— четырехканальный со встроенным принтером АПГ4-02П.

Коагулометры разработаны совместно с ООО «ЭМКО», их торговая марка «ЭМКО».

Приборы производятся и реализуются НПП «Техномедика» в конструктивных исполнениях:

— **АПГ2-02:** 2 измерительные ячейки, 4 ячейки для инкубирования, 2 ячейки для прогрева реактивов (одна — с магнитной мешалкой);

— **АПГ2-02П:** 2 измерительные ячейки, 4 ячейки для инкубирования, 2 ячейки для прогрева реактивов (одна — с магнитной мешалкой), встроенный принтер;

— **АПГ4-02П:** 4 измерительные ячейки, 8 ячеек для инкубирования, 2 ячейки для прогрева реактивов (одна — с магнитной мешалкой), встроенный принтер.

Внешний вид коагулометра ЭМКО представлен на рис. 1.

Коагулометры ЭМКО успешно прошли клинические испытания в ведущих медицинских центрах: в РМАПО (зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики проф. Долгов В. В.); в институте клинической кардиологии им А. Л. Мясникова РКНПК МЗ РФ (руководитель ЛКБ проф. Титов В. Н.); в Санкт-Петербургском медицинском университете (руководитель ЛЦ проф. Эммануэль В. Л.).

Технические испытания коагулометров как средства измерения медицинского назначения проведены во ВНИИОФИ, г. Москва.

Приборы зарегистрированы Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (Регистрационное удостоверение № ФС 022a2006/4051-06), Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии выдан сертификат



Рис. 1. Двухканальный коагулометр ЭМКО с принтером

об утверждении типа средств измерений (RU.C.39.003. А № 25745).

Коагулометры ЭМКО представляют собой программируемые оптико-механические полуавтоматические анализаторы.

В полуавтоматических системах, таких как коагулометры ЭМКО, дозирование плазмы и реагентов осуществляется лаборантом, а измерение времени образования сгустка и пересчет времени свертывания в единицы теста выполняется автоматически анализатором.

В приборах реализовано два метода автоматического измерения времени образования фибринового сгустка: оптический и механический. Наличие двух методов регистрации фибринового сгустка делает эти приборы универсальными, они могут использоваться при работе с любым видом биопробы (плазма или кровь) в различных разбавлениях и с применением любых реактивов, в том числе непрозрачных.

Оптический метод основан на регистрации резкого изменения оптической плотности биопробы вследствие образования фибринового сгустка. Оптический способ фиксации предпочтителен в тестах с разбавлением плазмы (определение концентрации фибриногена по Клауссу, протромбиновый тест по Квику и пр.), поскольку в этом случае не образуется достаточно плотный фибриновый сгусток, способный остановить вращение шарика. К сожалению, для всех коагулометров, использующих оптический метод, нет единого алгоритма определения момента образования сгустка, вследствие этого результаты, полученные на приборах этого типа разных фирм, могут различаться.

Механический метод основан на регистрации момента остановки вращения магнитной мешалки (стального шарика) за счет изменения реологических свойств биопробы в ходе реакции. Механический способ наиболее физиологично моделирует образование тромба: остановка вращения шарика может быть однозначно интерпретирована как момент образования сгустка. Поэтому в качестве референтного метода целесообразно использовать механический способ регистрации времени свертывания.

В коагулометрах ЭМКО определение времени свертывания по изменению оптической плотности сопоставляется с результатами механического способа определения, что дает **высокую достоверность результатов измерений как при механическом, так и при оптическом способах.**

Коагулометры ЭМКО запрограммированы на автоматическое выполнение 16 коагулологических тестов:

Основные (скрининговые) тесты:

1. Протромбиновый тест (ПВ, ПО, МНО, % по Квику);
2. АЧТВ/АПТВ (время, отношение);
3. Концентрация фибриногена по Клауссу (в г/л);
4. Тромбиновое время (время, отношение);

Дополнительные тесты:

5. Активность фактора VIII (в %);
6. Активность фактора IX (в %);
7. Активность протеина С (в НО);
8. Активность антитромбина (в %);
9. Активность фактора II (в %);
10. Активность фактора V (в %);
11. Активность фактора VII (в %);
12. Активность фактора X (в %);
13. Активность фактора XI (в %);
14. Активность фактора XII (в %);
15. Тромбин-гепаринное время свертывания (в %);
16. Время свертывания (произвольный режим).

В коагулометрах ЭМКО применена **оригинальная одноразовая микрокювета**, рассчитанная на проведение высокоточных измерений с объемом пробы всего 50 мкл, возможно проведение измерений и с меньшим объемом пробы: 25 мкл — механическим методом, 35 мкл — оптическим. Особенности геометрии дна кюветы обеспечивают снижение разброса результатов анализа. Применение микрокюветы дает возможность экономии реагентов и проведения большего числа анализов при меньшем количестве забираемой крови.

Коагулометры ЭМКО снабжены функцией автостарта — автоматическое начало отсчета времени измерения после добавления последнего реагента в пробу любым дозатором (пипеткой). Функция автостарта реализована по изменению объема исследуемой жидкости от 25 до 100–200 мкл в зависимости от вида исследования.

Высокая воспроизводимость результатов измерений обеспечивается особенностями конструкции одноразовой микрокюветы, эффективным перемешиванием реакционной смеси (пробы и реактивов), высокоточным независимым поддержанием температуры в измерительных модулях, а также методически, за счет предварительного прогрева пустой кюветы и использования автостарта. Удобство в работе обеспечивает высокий уровень автоматизации: функция автостарта инкубации и автостарта запуска отсчета времени реакции, автоматический обсчет результатов измерения.

Энергонезависимая память обеспечивает сохранение результатов 1000 последних измерений, включая калибровочные графики (до 5 точек), контрольные значения и параметры теста (вид биопробы, метод регистрации, время инкубации, коэффициент вариации и пр.) с возможностью последующей распечатки на встроенном термопринтере или сохранения на персональном компьютере через последовательный интерфейс RS232.

Коагулометры ЭМКО осуществляют **контроль качества измерений** по вычислению коэффициента вариации CV (в %) между каналами. При проведении измерений в двух каналах одновременно (парное измерение одной и той же биопробы) осуществляется расчет среднего значения. В приборах реализован автоматический



Рис. 2. Диспенсер — устройство для подачи шарика в микрокювету

контроль качества калибровок: при неверной калибровке анализатор выдает соответствующее сообщение-подсказку и не позволяет проводить дальнейшие измерения.

При работе с приборами возможно использование коагулологических наборов реагентов любого производителя, т. е. коагулометры ЭМКО являются открытыми системами.

Встроенный термопринтер дает возможность распечатать результаты измерений, включая основные параметры теста.

Конструктивные решения и технология производства приборов позволили определить гарантийный

срок — 2 года; и 2,5 года при условии регистрации у фирмы-производителя.

Коагулометры ЭМКО обладают высокими метрологическими характеристиками, что подтверждают проведенные сравнительные испытания с лучшими зарубежными образцами.

Значения показателей гемостаза (ПТ, ТВ, АЧТВ, фибриноген), полученные на коагулометрах ЭМКО с применением реагентов отечественного производства (НПО «Ренам», ООО «Технология-Стандарт»), в сравнении с автоматическим анализатором «**STA Compact**» фирмы «Roche Diagnostics» и реагентами «Roche Diagnostics»: коэффициенты корреляции ПТ (МНО) — $R = 0,98$, $p < 0,05$, $n = 35$; ТВ — $R = 0,95$, $p < 0,05$, $n = 35$; АЧТВ — $R = 0,87$, $p < 0,05$, $n = 40$; фибриноген — $R = 0,98$, $p < 0,05$, $n = 35$.

Проведено сравнительное определение времени образования сгустка в тестах ПВ и АЧТВ в плазме пациентов на автоматическом анализаторе коагуляции крови Sysmex CA-560 (Япония) с использованием соответствующих калибраторов и контрольных материалов фирмы «Dade Behring» и полуавтоматических коагулометров ЭМКО. Корреляции полученных значений $R = 0,97$, $p < 0,05$.

Получена сравнительная оценка коагулометров ЭМКО и коагулометра Coagulometr CL4 фирмы «Behnk Elektronik» (Германия). Коэффициенты корреляции в тестах ПТ и АЧТВ составили $R = 0,95$ и $R = 0,93$ ($n = 20$) соответственно.

Коагулометры ЭМКО комплектуются микрокюветами со штативом, шариками и диспенсером — устройством для подачи шарика в микрокювету (рис. 2).

Стоимость коагулометров ЭМКО и расходных материалов к ним значительно (в 2–3 раза) ниже стоимости импортных аналогов.