

Показатели свертывающей системы крови и противотромботические механизмы у больных эссенциальной артериальной гипертензией

В.Н. Крамарева¹, Э.В. Луговской²

¹Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

²Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, Киев

Резюме. Цель исследования — оценка показателей свертывающей системы и фибринолиза у 30 больных с эссенциальной артериальной гипертензией (АГ) в возрасте 32–69 лет (в среднем — 53,6±6,8 года). У 11 больных был низкий (<5%) риск сердечно-сосудистых осложнений, у 19 — высокий (>5%). Изучались уровни фибриногена, растворимого фибрина, фактора Виллебранда, агрегации тромбоцитов, протеина С, тканевого активатора плазминогена и его ингибитора. Выявлено, что уровни фибриногена, растворимого фибрина, фактора Виллебранда, агрегации тромбоцитов достоверно выше у больных с эссенциальной АГ по сравнению с контролем. Показатели фибринолитической системы у больных АГ, особенно с сахарным диабетом, значительно понижались по сравнению с контролем. Диагностика и коррекция этих нарушений позволит предупредить возможные осложнения.

Ключевые слова: эссенциальная гипертензия, свертывающая система, фибринолиз.

Введение

Артериальные тромбы — основная проблема современной кардиологии. Процессы тромбообразования связаны с повреждением сосудистой стенки, свойствами самой крови (чаще всего нарушениями противотромботических систем), тромбоцитарным звеном гемостаза (Бокарев И.Н. и соавт., 2009).

Роль противосвертывающей системы состоит в контроле и ограничении процессов гемостаза. Она включает в себя систему плазминогена, его активаторов и ингибиторов, антиплазминов и систему первичных антикоагулянтов, в частности протеина С.

У больных эссенциальной артериальной гипертензией (АГ) вероятность гиперкоагуляции достаточно высока. Это обусловлено часто наблюдаемым у этой категории больных ожирением, атерогенной дислипидемией с преобладанием триглицеридов (ТГ) и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), а также изменениями углеводного обмена: инсулинорезистентностью, гиперинсулинемией. Данные нарушения, как известно, сопровождаются дисфункцией эндотелия, повышенной выработкой фактора Виллебранда, нарушением фибринолиза, усиленной продукцией ингибитора тканевого активатора плазминогена (Lundman P. et al., 1997; Bell D.M. et al., 1998) и повышают риск развития сосудистых осложнений. В связи с этим представляет интерес изучение показателей свертывающей и противосвертывающей систем крови у больных эссенциальной АГ.

Цель нашего исследования — изучение показателей гемостаза — уровня фибриногена, активированного частично-

го тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ), фактора Виллебранда (vWF), растворимого фибрина (РФ), агрегационной способности тромбоцитов (АТ), и противотромботических механизмов — протеина С, содержания тканевого активатора плазминогена (t-PA) и его ингибитора (PAI-1) у больных эссенциальной АГ.

Объект и методы исследования

В исследование были включены 30 больных эссенциальной АГ 1-й и 2-й степени согласно критериям Всемирной организации здравоохранения и Международного общества по артериальной гипертензии (World Health Organization — International Society of Hypertension (1999), в том числе 18 женщин и 12 мужчин в возрасте от 32 до 69 лет (в среднем — 53,6±6,8 года).

У 3 (10%) больных на момент включения в исследование отмечалась стабильная стенокардия I–II функционального класса (ФК), у 2 (6,7%) — ишемический инсульт. Дислипидемия наблюдалась у 26 (86,7%) пациентов, курили 11 (36,7%) больных. Сахарный диабет 2-го типа был в анамнезе у 5 (16,7%) больных. Средний индекс массы тела (ИМТ) составил 28,4±1,9 кг/м². Пациенты с сахарным диабетом были обследованы в состоянии хорошей и удовлетворительной клинико-метаболической компенсации заболевания. Группу контроля составили 12 здоровых.

АЧТВ, ПВ и уровень плазменного фибриногена (Ф) определяли с помощью наборов реактивов фирмы «Huma» (Германия).

Агрегацию тромбоцитов исследовали по методу G. Ворп на агрегометре «Throm-

lite» (Россия) с использованием в качестве индукторов динатриевой соли АДФ в конечной концентрации 2,0·10⁻⁶ М (фирма «Sigma»), ристоцетина в конечной концентрации 0,8 мг/мл (НПО «РЕНАМ», Россия).

Количественное определение РФ в плазме крови проводили с помощью иммуноферментного метода, разработанного в Институте биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины (Lugovskoy E.V. et al., 2009).

Показатели активности фактора Виллебранда, уровень естественного антикоагулянта протеина С, а также показатели фибринолитической системы — уровень антигена t-PA и содержание PAI-1 определяли иммуноферментным методом ELISA с использованием наборов реактивов фирмы «Technoclone» (Австрия). Показатель активности t-PA определяли с использованием хромогенных субстратов той же фирмы.

Содержание общего ХС, ТГ определяли ферментным методом с помощью наборов фирмы «Huma» (Германия) на биохимическом полианализаторе «Huma», уровень ХС липопротеинов высокой плотности (ЛГПВП) — тем же методом после осаждения из сыворотки крови апо-В-содержащих липопротеинов раствором 1,1 мМ фосфовольфрамата натрия с 45 мМ MgCl₂. Уровень ХС липопротеинов низкой плотности (ЛГПНП) рассчитывали по формуле Фридрихвальда (Friedwald W.T. et al., 1972).

Всех больных распределили на две группы по величине суммарного кардиоваскулярного риска, рассчитанного согласно Европейским рекомендациям по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний (Graham I. et al., 2007): 1-я группа — пациенты с риском <5% (11 человек),

2-я группа — пациенты с риском $\geq 5\%$ (19 человек).

Статистические данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартного отклонения (Mean \pm SD). Достоверность различий оценивали по критерию *t* Стьюдента. Уровень значимости $p < 0,05$ считали достоверным.

Результаты и их обсуждение

Клинико-демографические данные и исходные биохимические показатели обследуемых больных представлены в табл. 1.

Результаты проведенных исследований представлены в табл. 2.

Анализ полученных данных выявил достоверное повышение уровней фибриногена и растворимого фибрина у больных с низким (<5%) — 1-я группа и высоким ($\geq 5\%$) — 2-я группа — кардиоваскулярным риском по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Повышение величин фактора Виллебранда, усиление агрегационной активности тромбоцитов и укорочение АЧТВ отмечено лишь у больных с риском $\geq 5\%$ ($p < 0,05$). Изучение показателей фибринолиза показало, что у больных с высоким риском существенно повышалось содержание ингибитора PAI-1 по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Показатели антигена и активности t-PA были одинаково высокими в обеих группах обследуемых пациентов (все $p < 0,05$). В группе больных с риском $\geq 5\%$ также отмечено достоверное усиление антикоагулянтной активности протеина С ($p < 0,05$). Следует подчеркнуть, что у 4 больных с риском $\geq 5\%$ значения показателя PAI-1 были близкие к нулю. У всех

этих больных выявлены процессы тромбообразования (тромб ушка левого предсердия, тромбоэмболия мелких ветвей легочной артерии, острое нарушение мозгового кровообращения). У отдельных пациентов, преимущественно с сахарным диабетом, отмечалось существенное снижение активности протеина С. Известно, что конечное действие системы протеина С направлено на индуцирование фибринолиза. Сниженный уровень данного протеина является фактором повышенного риска возникновения тромбозов (Pabinger I. et al., 1994).

Таким образом, по результатам наших исследований выявили нарушения в системе гемостаза и фибринолиза в виде повышения уровней фибриногена и растворимого фибрина, нарушения агрегационной способности тромбоцитов, увеличения антигена и активности тканевого активатора плазминогена, протеина С и содержания ингибитора тканевого активатора плазминогена, в отдельных случаях — угнетение уровня PAI-1 и снижение активности протеина С, а также дисфункцию эндотелия вследствие повышения уровня фактора Виллебранда, что свидетельствует о нарушении гемостаза и фибринолиза в крови у больных эссенциальной АГ.

Большое значение в прогнозе развития заболевания имеют показатели растворимого фибрина и фактора Виллебранда. Показатель РФ выше нормы свидетельствует о появлении в крови тромбина, который расщепляет фибриноген и полимеризует фибрин-мономеры для образования фибринового сгустка. Высокие значения фактора Виллебранда являются показателем усиленной внутрисосудистой

агрегации тромбоцитов, так как данный белок синтезируется эндотелием в ответ на его повреждение или активацию тромбином и инициирует начало тромбообразования (Blann A., 1993; Lugovskoy E.V. et al., 2009). Выявленные высокие показатели РФ и vWF свидетельствуют о высоком тромбогенном потенциале крови.

Отмеченное в нашей работе резкое снижение уровня PAI-1 у 4 больных высокого риска вплоть до нуля связано, скорее всего, с вторичной активацией системы фибринолиза при формировании тромбов и повышенным потреблением PAI-1, что согласуется с исследованиями V. Roldan и соавторов (Roldan V. et al., 1998).

Тканевый активатор плазминогена (t-PA) и протеин С — важные компоненты противосвертывающей системы крови, компенсаторно активизирующиеся на протромбогенную ситуацию в организме. Однако высокий уровень PAI-1 снижает активность фибринолитической системы за счет образования неактивного комплекса t-PA — PAI-1. Известно, что в кровотоке 95% циркулирующего t-PA связывается с ингибитором PAI-1 и находится в неактивной форме. Повышение антигена t-PA, наряду с высоким уровнем PAI-1, принято считать коагуляционными факторами риска клинического проявления атеросклероза (Ridker P.M. et al., 1993; Wiczorek I. et al., 1994).

Выводы

Итак, выявленные в нашем исследовании нарушения в системе гемостаза и фибринолиза, дисфункцию эндотелия у больных эссенциальной АГ можно считать дополнительными факторами риска кардиоваскулярных осложнений. Диагностика и коррекция этих изменений поможет улучшить клиническое течение и прогноз заболевания.

Литература

- Бокарев И.Н., Попова Л.В., Козлова Т.В. (2009) Тромбозы и противотромботическая терапия в клинической практике. Москва, 511 с.
- Bell D.M., Johns T.E., Lopez L.M. (1998) Endothelial dysfunction: implications for therapy of cardiovascular diseases. *Ann. Pharmacother.*, 32(4): 459–470.
- Blann A. (1993) von Willebrand factor and the endothelium in vascular disease. *Br. J. Biomed. Sci.*, 50(2): 125–134.
- Friedwald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.*, 18(6): 499–502.
- Graham I., Atar D., Borch-Johnsen K. et al. (2007) European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: full text. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.*, 14(Suppl. 2): S1–113.
- Lugovskoy E.V., Gritsenko P.G., Kolesnikova I.N. et al. (2009) A neoantigenic determinant in coiled coil region of human fibrin B-chain. *Thromb. Res.*, 123(5): 765–770.
- Lundman P., Eriksson M., Schenck-Gustafsson K. et al. (1997) Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men

Таблица 1

Показатель	Клиническая характеристика больных	
	Больные АГ (n=30)	
Возраст, лет	53,6 \pm 6,8	
Мужчины/женщины, %	40/60	
ИМТ, кг/м ²	28,4 \pm 1,9	
Дислипидемия, %	86,7	
Курение, %	36,7	
Стабильная стенокардия I–II ФК, %	10	
Ишемический инсульт в анамнезе, %	6,7	
Сахарный диабет 2-го типа, %	16,7	
САД, мм рт. ст.	158,5 \pm 6,4	
ДАД, мм рт. ст.	88,4 \pm 3,9	
Общий ХС, ммоль/л	5,9 \pm 0,8	
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,7 \pm 0,4	
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,8 \pm 0,5	
ТГ, ммоль/л	2,0 \pm 0,3	
Глюкоза крови, ммоль/л	5,4 \pm 0,7	

САД — систолическое артериальное давление, ДАД — диастолическое артериальное давление.

Таблица 2

Показатель	Показатели гемостаза и фибринолиза у больных эссенциальной АГ в зависимости от величины суммарного риска		
	1-я группа (n=11)	2-я группа (n=19)	Здоровые (n=12)
Ф, г/л	1,92 \pm 0,1*	2,2 \pm 0,3*	1,54 \pm 0,2
РФ, мкг/мл	1,68 \pm 0,3*	2,6 \pm 0,35*	0,58 \pm 0,15
vWF, у/мл	0,45 \pm 0,15	0,79 \pm 0,2*	0,25 \pm 0,1
АЧТВ, с	34,2 \pm 0,6	31,1 \pm 1,5*	34,8 \pm 0,6
ПВ, с	19,1 \pm 0,2	19,3 \pm 0,35	19,0 \pm 0,7
АТ-АДФ, %	39,4 \pm 3,7	31,5 \pm 4,6*	43,9 \pm 3,1
АТ-ристоцетин, %	38,2 \pm 3,5	26,4 \pm 2,6*	40,2 \pm 2,5
Антиген t-PA, нг/мл	0,88 \pm 0,3*	1,29 \pm 0,5*	0,38 \pm 0,12
Активность t-PA, у/мл	0,0059 \pm 0,001*	0,0099 \pm 0,001*	0,0004 \pm 0,0002
PAI-1, нг/мл	16,8 \pm 7,5	25,9 \pm 9,6*	10,5 \pm 1,64
Протеин С, %	43,8 \pm 4,5	48,8 \pm 2,4*	40,2 \pm 3,2

* $p < 0,05$ при сравнении показателя с контролем.

without risk factors for coronary heart disease. *Circulation*, 96(10): 3266–3268.

Pabinger I., Kyrle P.A., Heisteringer M. et al. (1994) The risk of thromboembolism in asymptomatic patients with protein C and protein S deficiency: a prospective cohort study. *Thromb. Haemost.*, 71(4): 441–445.

Ridker P.M., Vaughan D.E., Stampfer M.J. et al. (1993) Endogenous tissue type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet*, 341(8854): 1165–1168.

Roldan V., Marin F., Marco P. et al. (1998) Hypofibrinolysis in atrial fibrillation. *Am. Heart J.*, 136(6): 956–960.

Wieczorek I., Ludlam C.A., Fox K.A. (1994) Tissue type plasminogen activator and PAI-1 activities as predictors of adverse events in unstable angina. *Am. J. Cardiol.*, 74(5): 424–429.

World Health Organization — International Society of Hypertension (1999) Guidelines for the management of hypertension. *J. Hypertens.*, 17(2): 151–183.

Показники згортувальної системи крові та протитромботичні механізми у хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію

В.Н. Крамарьова, Е.В. Луговський

Резюме. Мета дослідження — оцінка показників згортувальної системи та фібри-

нолізу у 30 хворих на есенціальну артеріальну гіпертензію (АГ) віком 32–69 років (в середньому — 53,6±6,8 року). У 11 хворих був низький (<5%) ризик серцево-судинних ускладнень, у 19 — високий (>5%). Вивчали рівні фібриногену, розчинного фібрину, фактора Вільбранда, агрегації тромбоцитів, протеїну С, тканинного активатора плазміногену та його інгібітора. Виявлено, що рівні фібриногену, розчинного фібрину, фактора Вільбранда, агрегації тромбоцитів достовірно вищі у хворих на есенціальну АГ порівняно з контролем. Показники фібринолітичної системи у хворих на АГ, особливо з цукровим діабетом, значно знижувалися порівняно з контролем. Діагностика і корекція цих порушень дозволяє запобігати можливим ускладненням.

Ключові слова: есенціальна гіпертензія, згортувальна система, фібриноліз.

Clotting system and antithrombotic mechanisms in essential hypertension patients

V.N. Kramareva, E.V. Lugovskoy

Summary. The aim of the study was to evaluate clotting system and antithrom-

botic mechanisms, lipid spectrum in 30 essential hypertension (EH) patients aged 32–69 years (mean 53.6±6.8 years). 11 patients (group one) have low (<5%) cardiovascular risk, 19 patients (group two) have high (>5%) cardiovascular risk. The following parameters were analyzed: fibrinogen and soluble fibrin levels, protein C and von Willebrand factor activity, platelet aggregation with different inductors, tissue plasminogen activator and type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) levels, lipid spectrum. Fibrinogen and soluble fibrin levels, platelet aggregation, von Willebrand factor activity, PAI-1 level we found to be hyperactive while anticoagulatory factors were suppressed in EH patients with high (>5%) cardiovascular risk. Correction of these disorders leads to pronounced lowering of high hypercoagulation risk in EH patients.

Key words: essential hypertension, clotting system, fibrinolysis.

Адрес для переписки:

Крамарева Вікторія Ніловна
01004, Київ, бульв. Тараса Шевченка, 13
Национальный медицинский
университет им. А.А.Богомольца,
кафедра внутренней медицины № 4

Реферативна інформація

Создан логический вентиль из ДНК

По материалам www.nature.com; www.newscientist.com; www.lenta.ru

В журнале «Nature Nanotechnology» учеными из «Hebrew University of Jerusalem» была опубликована статья, где авторы заявили о создании логического вентиля (базовый элемент цифровой схемы, выполняющий элементарную логическую операцию) на основе молекул ДНК. Устройство теоретически способно работать внутри тела и, например, регулировать выделение лекарственных средств, освобождая их только там, где это необходимо, — пишет «New Scientist».

Логический вентиль выдает тот или иной сигнал на выходе в зависимости от входных сигналов. В данном случае ученым удалось реализовать логические вентиля, выполняющие различные логические функции, в частности функцию исключающего «ИЛИ». Ключевыми элементами созданной авторами новой работы системы выступали комплементарные нити ДНК, то есть нити определенных последовательностей, которые образуют друг с другом прочное соединение. Каждая из нитей представляла значение «1», если присутствовала, и «0», если отсутствовала. Чтобы непосредственно наблюдать, какой сигнал нити создают на входе, ученые присоединили к ним флуоресцирующие молекулы. Когда на входе присутствовала только одна нить, молекула испускала свечение, а когда нитей было две, их флуоресценция взаимно гасилась.

Помимо создания единичного работающего логического вентиля, ученые также получили систему из последовательно работающих вентилях, реализующих различные логические функции. Теоретически развитие этой работы может привести к созданию компьютера из ДНК, способного выполнять элементарные арифметические операции — сложение и вычитание. Кроме того, исследователи добились протекания нескольких последовательных операций, когда сигнал на выходе одного устройства служил входным сигналом для следующего.

Авторы новой работы протестировали в пробирке, насколько полезным созданное ими устройство может быть для медицины. Ученые связали логический вентиль с молекулой, способной инактивировать тромбин, фермент, вызывающий сворачивание крови. В норме сворачивание крови позволяет избежать кровотечений, но при сердечно-сосудистых заболеваниях образующиеся сгустки крови представляют серьезную опасность для жизни человека. В созданной учеными схеме инактиватор тромбина выделялся только в том случае, если вентиль «наткался» на фермент.

Создание компьютеров на основе биологических систем — не самое популярное, но достаточно активно развивающееся направление науки. Различные коллективы исследователей по-разному подходят к решению этого вопроса. Один из возможных подходов — это создание компьютеров из бактерий. Недавно такой компьютер смог решить классическую вычислительную задачу по сортировке блинов.

Prolia™ одобрен в ЕС

По материалам www.amgen.com

28 мая 2010 г. Европейская комиссия одобрила заявку на маркетинг в ЕС препарата Prolia™ (деносумаб, «Amgen Inc.») для лечения остеопороза у женщин постменопаузального возраста с высоким риском переломов, а также для терапии потери костной массы у мужчин, больных раком простаты, с аналогичным риском, сообщает сайт компании. Напомним, что в конце прошлого года Комитет по лекарственным средствам для применения у человека (Committee for Medicinal Products for Human Use) вынес положительное заключение относительно одобрения этого препарата. В рамках соглашения «Amgen» и «GlaxoSmithKline plc» будут совместно маркетинговать данный препарат для лечения остеопороза в Европе, в то время как «Amgen» сохранит за собой полные права на маркетинг Prolia на территории Северной Америки, а также будет самостоятельно продвигать его в Европе у больных онкологического профиля.