

Научно-практический журнал

«ГЕМОСТАЗИОЛОГИЯ»

№2 - 2012



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ «ГЕМОСТАЗИОЛОГИЯ»

Журнал «Гемостазиология» основан гематологами, специализирующимися в области исследования проблем системы гемостаза, и зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций (свидетельство о регистрации СМИ № ФС77-35396 от 20 февраля 2009 г.).

Главный редактор:

д.м.н., проф. А. П. Момот.

Заместитель главного редактора:

д.м.н. А. Н. Мамаев.

Редакционный совет:

д.м.н., проф. Т. В. Вавилова (Санкт-Петербург);
д.м.н. Н. И. Зозуля (Москва);
д.м.н., проф. В. Ю. Зоренко (Москва);
д.м.н., проф. А. А. Карпенко (Новосибирск);
д.м.н. Г. И. Костюченко (Барнаул);
д.м.н., проф. Б. И. Кузник (Чита);
д.м.н., проф. В. Г. Лычев (Барнаул);
д.м.н., проф. В. А. Макаров (Москва);
д.м.н., проф. Л. П. Папаян (Санкт-Петербург);
д.м.н., проф. О. П. Плющ (Москва);
д.м.н., проф. Т. И. Поспелова (Новосибирск);
д.б.н., проф. Е. В. Ройтман (Москва);
член-корр. РАМН, д.м.н., проф. А. Г. Румянцев (Москва);
д.м.н., проф. В. М. Чернов (Москва);
член-корр. РАМН, д.м.н., проф. Я. Н. Шойхет (Барнаул);
д.м.н., проф. И. И. Шахматов (Барнаул).

Корректор:

А. В. Жукова.

Издатель:

Фонд развития современных медицинских технологий «Гемостазиология».

Технический редактор:

М. А. Жданов.

Выпускающий редактор и учредитель:

д.м.н. А. Н. Мамаев.

Адрес редакции:

656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1, тел./факс: +7 (3852) 689-880, e-mail: amamaev@yandex.ru

Тираж: 750 экземпляров.

Номер журнала «Гемостазиология» издан при финансовой поддержке ООО фирмы «Технология-Стандарт»



СОДЕРЖАНИЕ

События, сообщения	3
---------------------------------	---

Передовая статья

Морозова И. Ю., Страмбовская Н. Н., Кузник Б. И., Роднина О. С. Роль лейкоцитов крови в развитии нарушений гемостаза у больных мозговым инсультом	6
--	---

Оригинальные исследования

Лычев В. Г., Андриенко А. В., Усынин В. В., Бубликов Д. С., Лычева И. В. Тромбофилии при ревматоидном артрите: гемореологический аспект, возможности медикаментозной коррекции.	13
Мамаев А. Н., Момот А. П. Нарушения в системе протеина С у больных с антифосфолипидным синдромом	17
Суворова А. В., Колесникова М. А., Строзенко Л. А., Дорохов Н. А. Клиническая апробация критериев риска тромбообразования у детей с реализованными тромбофилиями	20
Сердюк Г. В., Момот А. П., Игитова М. Б., Воробьева Е. Н., Дмитриенко К. В. Иммунологические изменения и С-реактивный белок как предикторы системного воспалительного ответа при беременности	25

Современные медицинские технологии

Сошитова Н. П., Пантелеев М. А., Атауллаханов Ф. И. Использование глобальных методов оценки состояния гемостаза при сепсисе	33
--	----

Обзор литературы

Момот А. П., Сидор Н. В. Современные представления о структуре и функции фактора XIII.	45
Кузник Б. И., Хавинсон В. Х. Цитокины и регуляторные пептиды: возрастные изменения, система гемостаза и тромботические заболевания (Обзор литературы и собственных данных) Сообщение первое	71

Информация для авторов	87
-------------------------------------	----

СОБЫТИЯ, СООБЩЕНИЯ

V съезд Всероссийского общества гемофилии и VI Всероссийская научно-практическая конференция по гемофилии (Москва, 12.11.2012)

В работе VI Всероссийской научно-практической конференции по гемофилии, прошедшей 12 ноября 2012 года в конференц-залах гостиницы «Измайлово», приняли участие более 400 врачей разных специальностей (гематологов, ортопедов, хирургов, врачей-лаборантов). Для тематического разделения информации были созданы параллельные специализированные секционные заседания. Некоторые дополнительные секции состоялись на базе Измайловской детской клинической больницы. На конференции были представлены весьма интересные доклады ведущих отечественных и зарубежных специалистов. С лекцией о современных методах лечения болезни Виллебранда выступил профессор Аугусто Федеричи (A. Federici, Милан, Италия).

Конференция проходила одновременно с V съездом Всероссийского общества гемофилии (ВОГ). Делегаты V съезда ВОГ и участники

VI конференции по гемофилии приняли резолюцию, в которой, в частности, говорится, что единственный путь профилактики инвалидизации и лечения больных гемофилией — это применение вирус-инактивированных концентратов факторов свертывания крови. Основной моделью лечения пациентов с тяжелой формой гемофилии является профилактическое лечение, когда сам пациент периодически вводит себе факторы свертывания крови. Лечение должно осуществляться в домашних условиях с самого раннего возраста, когда еще можно предотвратить необратимые поражения суставов и, как следствие, инвалидность.

В резолюции также говорится о целесообразности сохранения системы централизованного обеспечения пациентов с наследственными коагулопатиями концентратами факторов свертывания крови. Кроме того, была отмечена необходимость включения в перечень централизованно закупаемых концентратов факторов свертывания крови антиингибиторного комплекса для лечения пациентов с ингибиторной формой гемофилии.



Рис. 1. Открытие научно-практической конференции по гемофилии



Рис. 2. Делегаты V съезда Всероссийского общества гемофилии

Одновременно с конференцией была организована выставка, на которой были представлены зарубежные и отечественные новинки лучших производителей лекарств, специализированного оборудования и других средств медицинского назначения, применяемых в гематологии.

Предварительная информация о VI Всероссийской конференции «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии»

Конференция будет проходить с 31 января по 2 февраля 2013г. в Москве на территории НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. В ее работе будут участвовать ведущие отечественные и зарубежные специалисты в области фундаментальной и клинической гемостазиологии и гемореологии.

Тезисы принимаются до 25 ноября 2012 года. Тезисы подаются только on-line через форму на официальном сайте Конференции: www.clin-hemostas2013.ru.

В рамках Конференции запланированы секции и заседания по следующим темам:

1. «Рак и тромбоз»
2. «Венозный тромбоэмболизм — кризис общественного здоровья»
3. «Микроциркуляторные и гемореологические аспекты в клинике и эксперименте»
4. «Гемостаз пожилого возраста: от фундаментальных проблем к профилактике тромбозов»
5. «Фундаментальная наука — клинической гемостазиологии»
6. «Тромболизис сегодня»
7. «Проблемы нарушения свертывания крови и фибринолиза в хирургии, анестезиологии и интенсивной терапии»
8. «Генетические основы патологии гемостаза»
9. «Лабораторная диагностика нарушений свертывания крови и фибринолиза»
10. «Гемостазиологическое здоровье женщины»

Для контактов: Ройтман Евгений Витальевич — roitman@hemostas.ru

Предварительная информация о V Сибирской научно-практической конференции гематологов «Баркагановские чтения»

Организаторы конференции:

Главное управление Алтайского края по здравоохранению и фармацевтической деятельности, Алтайский государственный медицинский университет, Алтайский филиал ГНЦ Минздрава РФ.

Тема конференции: «Тромбозы и кровотечения в клинической практике».

Место проведения и даты:

16.05.2013 — г. Барнаул;

17.05.2013 — г. Белокуриха.

Цель конференции — предоставить современную информацию о методах диагностики, профилактики и лечения кровотечений, тромбозов, тромбоэмболий и других нарушений, в основе которых патология системы гемостаза. Конференцию планируется тематически разделить на два дня, в первый из которых будут освещаться вопросы диагностики и лечения тромбозов, тромбоэмболий, во второй — актуальные вопросы лечения геморрагических заболеваний и синдромов.

Предварительная программа

16.05.2013 (место проведения — г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1, КГБУЗ «ККБ»).

Тематика: Актуальные вопросы диагностики и лечения тромбозов, тромбоэмболий.

Модераторы: член-корр. РАМН, д.м.н., проф. Я. Н. Шойхет; д.м.н., проф. В. А. Елыкомов; д.м.н., проф., А. П. Момот.

1. 8:30–9:00 Регистрация участников конференции.
2. 9:00–9:30 Вступительное слово:

- Долгова Ирина Викторовна — начальник Главного управления Алтайского края по здравоохранению и фармацевтической деятельности;
- Шойхет Яков Наумович — президент Медицинской палаты Алтайского края.

3. 9:30–10:00 [Баркаган З. С.], Шойхет Я. Н., Момот А. П. (Барнаул). О гемостатических и воспалительных реакциях в пато-

генезе гнойно-деструктивных процессов, лежащих в основе общепатологического системного ответа при защите организма.

4. 10:00–10:20 Елыкомов В. А., Елыкомов И. В. (Барнаул). Тромбофилические состояния в клинической практике.
5. 10:20–10:50 Леонтьев С. Г. (Москва). Тромботическая терапия при ТЭЛА.
6. 10:50–11:10 Харькин А. В. (Москва). Профилактика тромботических осложнений в детской кардиохирургии.
7. 11:10–11:30 Кофе-брейк.
8. 11:30–11:50 Кузник Б. И. (Чита). Эпигенетические механизмы регуляции системы гемостаза.
9. 11:50–12:10 Гендлин Г. Е. (Москва). Возможности новых пероральных антикоагулянтов в профилактике тромбоэмболических осложнений у пациентов с неклапанной ФП.
10. 12:10–12:30 Ройтман Е. В. (Москва). Комплексное обоснование современной профилактики венозных тромбоэмболических осложнений. Реологические свойства крови детей с острым лимфобластным лейкозом.
11. 12:30–12:50 Цывкина Л. П., Борисова О. Г., Момот А. П. (Барнаул). Пути прогресса в улучшении результатов экстракорпорального оплодотворения, основанного на выявлении и коррекции патологии гемостаза.
12. 12:50–13:10 Суханова Г. А. (Москва). Опыт амбулаторного применения препарата Антитромбин III в гематологической практике.
13. 13:10–13:20 Козлова Е. А. (Барнаул). Лабораторная диагностика минимальной остаточной болезни при лейкозах.
14. 13:20–13:40 Сироткина О. В. (Санкт-Петербург). Вопросы генетического тестирования на тромбофилию: «Что, кому и как делать».
15. 14:00 Открытие памятной доски члена-корреспондента РАМН, д.м.н., проф. З. С. Баркагана.

17.05.2013 (место проведения — г. Белокуриха, санаторий «Сибирь»).

Тематика: Актуальные вопросы лечения геморрагических заболеваний и синдромов.

Модераторы: д.м.н., проф. Г. М. Галстян; д.м.н. А. Н. Мамаев; д.м.н., проф. И. Л. Давыдкин.

1. 10:00–10:30 Давыдкин И. Л., Куртов И. В. (Самара). Новый отечественный рекомбинантный фактор свертывания VIII — препарат Октофактор. Результаты профилактического лечения.
2. 10:30–11:00 Момот А. П., Молчанова И. В. (Барнаул). Комплексный подход в терапии акушерских кровотечений.
3. 11:00–11:30 Рыбка М. М. (Москва). Применение rVIIa в кардиохирургии.
4. 11:30–12:00 Мамаев А. Н., Голоденко А. И., Распопова Е. А. (Барнаул). Опыт оказания специализированной помощи больным гемофилией и болезнью Виллебранда в Алтайском крае.
5. 12:00–12:30 Галстян Г. М. (Москва). Применение rVIIa в различных клинических ситуациях.
6. 12:30–13:00 Свирин П. В. (Москва). Дифференциальная диагностика геморрагических заболеваний у новорожденных.
7. 13:00–13:30 Райкин И. Д. (Барнаул). Тактика гемотрансфузионной терапии у реанимационных больных.
8. 13:30–14:00 Куртов И. В., Давыдкин И. Л. (Самара). Новый отечественный рекомбинантный фактор свертывания VIII — препарат Октофактор. Результаты при лечении кровотечений.

Тематический курс повышения квалификации по тематике «Клиническая гемостазиология»

Весной 2013 года в течение двух месяцев с участием сотрудников ГОУ ВПО «АГМУ» на базе кафедры гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС, Алтайского краевого центра патологии гемостаза, Алтайского филиала ГНЦ будет проведен хозрасчетный цикл обучения врачей «Клиническая гемостазиология». Обучение будет включать клинические лекции и практические занятия.

Информацию раздела «События, сообщения» подготовил д.м.н. А. Н. Мамаев

Роль лейкоцитов крови в развитии нарушений гемостаза у больных мозговым инсультом

И. Ю. Морозова, Н. Н. Страмбовская, Б. И. Кузник, О. С. Роднина

ГБОУ ВПО «Читинская государственная академия Росздрава», г. Чита

Резюме

Обследовано 115 пациентов с инсультом, госпитализированных в 1-е сутки от начала заболевания, у которых оценивалась выраженность лейкоцитоза в зависимости от исхода заболевания, кроме этого, у больных определялось содержание лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов в мазках крови. Анализ показал, что чем выше лейкоцитоз, тем тяжелее протекает мозговой инсульт и чаще регистрируется летальный исход в 1-й месяц заболевания, особенно неблагоприятен прогноз при кровоизлиянии в мозг у исследуемых с гиперлейкоцитозом крови. Установлено, что у больных инсультом в периферической крови резко увеличивается содержание лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов, что способствует нарушению микроциркуляции и значительно ухудшает прогноз заболевания.

Ключевые слова

Ишемический и геморрагический инсульт, лейкоцитоз, лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты.

Summary

We examined 115 patients with stroke hospitalized in the first 24 h of the disease. The presence of leukocytosis and its severity were evaluated as predictors of outcomes. The level of leukocyte-erythrocyte aggregations in the blood film was determined in patients. The analysis revealed that the higher was leukocytosis, the more severe was the course of stroke and the higher was frequency of fatal outcomes. The most unfavorable prognosis was observed in patients with hemorrhagic stroke and leukocytosis. The higher was the number of leukocytes, the higher was the probability of fatal outcome in the first month of stroke. The level of leukocyte-erythrocyte aggregations dramatically increased in the blood of stroke patients that promoted the disturbance of microcirculation and worsened significantly the disease prognosis.

Key words

Ischemic stroke, hemorrhagic stroke, leukocytosis, leukocyte-erythrocyte aggregations.

Инсульт на современном этапе является важнейшей медико-социальной и экономически значимой проблемой, ежегодная смертность от инсульта в России остается очень высокой — 175

на 100 тысяч населения [12]. Среди всех заболеваний нервной системы, приводящих к инвалидности, инсульты занимают первое место — 50%, причем в основном это инвалидность I и II группы. К труду возвращаются лишь 15–17% больных молодого и среднего возраста [4]. Важной вехой в ангионеврологии стала разработка концепции дисрегуляции системы гемостаза как универсального патогенетического фактора развития и течения ишемического ОНМК. Однако в последние годы появились сообщения, что в механизме развития инфарктов миокарда, ишемических и геморрагических инсультов важная роль отводится лейкоцитам [7, 12, 11, 15]. Более того, В. Collier [14], обобщив данные литературы и материалы собственных исследований, приходит к выводу, что снижение числа лейкоцитов до нижней границы нормы может привести к улучшению прогнозов при ишемической болезни сердца (ИБС), инсультах и других заболеваниях, сопровождающихся тромбообразованием.

Учитывая сказанное, целью исследования стала оценка влияния количества лейкоцитов на исход заболевания у пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом.

Материалы и методы

Исследование проводилось в группе пациентов с ОНМК, госпитализированных в отделение неврологии и интенсивной терапии краевой клинической больницы г. Читы в 1-е сутки от начала заболевания. Диагноз ОНМК устанавливался на основании жалоб, анамнеза заболевания, данных клинического неврологического обследования и в большинстве случаев был подтвержден нейровизуализационными методами исследования. Среди обследованных было 58 мужчин и 57 женщин. Средний возраст составил $59,5 \pm 10,4$ лет. Доля больных ишемическим инсультом составила 82% (47 мужчин и 47 женщин), геморрагическим — 18% (11 мужчин и 10 женщин). Летальный исход отмечен в 7% случаев (3 женщины и 5 мужчин пациентов $58,07 \pm 10,45$ лет). Среди сопутствующих заболеваний у больных были зарегистрированы хроническая обструктивная болезнь легких вне обострения, ИБС (стенокардия напряжения I–II ф.к.), хроническая ревматическая болезнь сердца (пороки), хронический пиелонефрит, хронический панкреатит, хронический холеци-

стит и гастрит, язвенная болезнь желудка вне обострения, сахарный диабет. Всем больным в день поступления в стационар забирали кровь на общий анализ. Оценивались наличие и выраженность лейкоцитоза в зависимости от характера, степени тяжести и исхода заболевания. Всем пациентам в мазке крови, окрашенной по Романовскому-Гимзе, подсчитывалось общее количество лейкоцитов, способных присоединять к себе эритроциты, то есть образующих лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты (ЛЭА). При этом за ЛЭА принимали клеточные ассоциации, состоящие из 3–7, иногда больше, эритроцитов, контактирующих с центрально расположенным лейкоцитом. Кроме этого, у всех пациентов был исследован коагуляционный гемостаз (коагулометр STA-R EVOLUTION, Франция) и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз (агрегометр BIOILA).

Все больные разделены на три основные группы по степени тяжести инсульта, которая оценивалась по шкале NIHSS: 1-я группа (49 человек) включала больных с оценкой тяжести инсульта до 5 баллов, 2-я (44 человека) — пациентов, у которых степень тяжести инсульта оценивалась от 5 до 10 баллов, 3-я группа (22 человека) — пациентов с оценкой тяжести инсульта более 10 баллов. По возрастному составу группы больных были идентичны.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики для связанных и несвязанных между собой наблюдений с помощью пакетов программ Microsoft Excel 2007 с определением достоверности различий при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$. Для сравнения частот применялись: при нормальном распределении признака — критерий Стьюдента, при ненормальном распределении признака — критерий Манна-Уитни.

В группу контроля вошли здоровые лица (38 исследуемых) соответствующего возраста ($56,8 \pm 11,5$ лет), не имеющие объективных признаков цереброваскулярной патологии.

Результаты

Лейкоцитоз (количество лейкоцитов более $9 \times 10^9/\text{л}$) у больных инсультом был зарегистрирован в 37,3% случаев (43 человека). У 21% пациентов (15 мужчин и 9 женщин) количество лейкоцитов было менее $12 \times 10^9/\text{л}$, у 10% (9 мужчин и

2 женщины) оно составило от 12 до $15 \times 10^9/\text{л}$, а у 7% (5 мужчин и 3 женщины) — свыше $15 \times 10^9/\text{л}$. Среди пациентов с уровнем лейкоцитов от 9 до $12 \times 10^9/\text{л}$ летальные исходы отмечены в 16% случаев (4 человека), при уровне от 12 до $15 \times 10^9/\text{л}$ — 18% (2 человека) и при лейкоцитозе свыше $15 \times 10^9/\text{л}$ — 25% случаев (2 человека). При этом летальные исходы у пациентов с уровнем лейкоцитов менее $9 \times 10^9/\text{л}$ не отмечались.

В дальнейшем мы проследили, как зависит исход ишемического и геморрагического инсульта от количества лейкоцитов в периферической крови. При ишемическом инсульте доля случаев с лейкоцитозом составила 33% (22 мужчины и 9 женщин), тогда как при геморрагическом — 57% (7 мужчин и 5 женщин). Нормальное число лейкоцитов при ишемическом инсульте зарегистрировано в 67% случаев (27 мужчин и 36 женщин), у них в 100% случаев исход заболевания был относительно благоприятным. При геморрагическом инсульте число лейкоцитов в норме сохранялось у 43% больных (4 мужчины и 5 женщин), из них выживших оказалось также 100% пациентов, $p < 0,01$. Тогда как при наличии лейкоцитоза независимо от степени его выраженности летальность составляет 16% (1 муж-

чина и 1 женщина) при геморрагическом и 9,6% (2 мужчины и 1 женщина) при ишемическом инсульте ($p < 0,001$). Таким образом, отмечено, что чем более выражен лейкоцитоз, тем хуже прогноз заболевания как при геморрагическом, так и при ишемическом инсульте.

Не вызывает сомнений, что у части больных дополнительным фактором, приведшим к летальному исходу, явилось наличие тяжелых сопутствующих заболеваний. Однако у большинства погибших больных с повышенным количеством лейкоцитов сопутствующие воспалительные заболевания отсутствовали, либо находились вне обострения. Полученные данные позволяют предположить, что одним из важнейших факторов, приведших к летальному исходу, служит сам лейкоцитоз.

При определении взаимосвязи между количеством лейкоцитов и показателями коагулограммы выявлено, что сильная корреляционная связь имеется при уровне лейкоцитов более $15 \times 10^9/\text{л}$ ($r = 0,7$), средняя — при лейкоцитозе от 12 до $15 \times 10^9/\text{л}$ и, в меньшей степени, коррелируют показатели коагулограммы с уровнем лейкоцитов менее $12 \times 10^9/\text{л}$ ($r < 0,3$) (табл. 1).

Таблица 1.

**Изменение показателей коагулограммы в 1-е сут. заболевания
в зависимости от количества лейкоцитов в крови больных ОНМК, $m \pm \sigma$**

Показатели коагулограммы	Количество лейкоцитов			
	до $9 \times 10^9/\text{л}$, n=72	9– $12 \times 10^9/\text{л}$, n=24	12– $15 \times 10^9/\text{л}$, n=11	более $15 \times 10^9/\text{л}$, n=8
Фибриноген, г/л	$378 \pm 78,3$	$447,96 \pm 140,05^{***}$	$451,3 \pm 122,4^{***}$	$490,4 \pm 182,7^{***}$
АЧТВ, сек.	$29,6 \pm 5,2$	$29 \pm 3,9^{**}$	$30,5 \pm 6,04^{**}$	$35,1 \pm 11,2^{***}$
D-димеры, мкг/мл	$1,13 \pm 0,8$	$1,35 \pm 0,73^{**}$	$1,9 \pm 0,8^{***}$	$2,5 \pm 0,9^{***}$
МНО	$0,91 \pm 0,74$	$1,03 \pm 0,65^{**}$	$1,05 \pm 0,83^{**}$	$1,38 \pm 0,79^{**}$

Примечание: *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$ — достоверность различий между группой пациентов с уровнем лейкоцитов до $9 \times 10^9/\text{л}$ и группами с различным уровнем лейкоцитоза.

Также выявлен следующий характер взаимосвязи между количеством лейкоцитов и агрегацией тромбоцитов: при лейкоцитозе свыше $15 \times 10^9/\text{л}$ определяется средняя коррелятивная связь, при лейкоцитозе от 12 до $15 \times 10^9/\text{л}$ — слабая коррелятивная связь, а при уровне лейкоци-

тов менее $12 \times 10^9/\text{л}$ коррелятивная связь отсутствует (табл. 2).

Одним из свойств лейкоцитов является способность взаимодействовать с эритроцитами, образуя ЛЭА. За последние годы показано, что резкое увеличение в крови ЛЭА является

Таблица 2.

**Изменение показателей агрегации тромбоцитов (опт. ед.) в 1-е сут. заболевания
в зависимости от количества лейкоцитов в крови больных ОНМК, $m \pm \sigma$**

Показатели агрегатограммы	Количество лейкоцитов			
	до $9 \times 10^9/\text{л}$, $n=72$	$9-12 \times 10^9/\text{л}$, $n=24$	$12-15 \times 10^9/\text{л}$, $n=11$	более $15 \times 10^9/\text{л}$, $n=8$
Спонтанная агрегация	$1,3 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,42$	$1,7 \pm 0,5^{**}$
Агрегация, индуцированная АДФ, 2,5 мг/мл	$8,1 \pm 3,13$	$8,2 \pm 2,9$	$5,3 \pm 2,04^{***}$	$5,6 \pm 3,5^{**}$
Агрегация, индуцированная адреналином, 1,25 мкг/мл	$5,3 \pm 2,17$	$5,7 \pm 2,2^{**}$	$4,05 \pm 1,9^{**}$	$5,6 \pm 2,3$
Агрегация, индуцированная ристомисином, 0,8 мг/мл	$6,7 \pm 2,3$	$6,8 \pm 1,8$	$5,9 \pm 2,3^{**}$	$6,1 \pm 2,3^{**}$

Примечание: *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$ — достоверность различий между группой пациентов с уровнем лейкоцитов до $9 \times 10^9/\text{л}$ и группами с различным уровнем лейкоцитоза.

неблагоприятным признаком, способствующим нарушению микроциркуляции и осложняющим течение основного заболевания [3–5, 8].

При исследовании мазков контрольной группы было выявлено, что в процесс образования ЛЭА в среднем вступает $0,26 \pm 0,18 \times 10^9$ лейкоцитов в литре крови. У больных ОНМК в крови количество ЛЭА увеличивалось в 4–5 раз — $0,83 \pm 0,66 \times 10^9$ ($p < 0,005$) по сравнению с контрольной группой. При легком течении инсульта (соответствие 1–5 баллам по шкале NIHSS) среднее количество лейкоцитов в крови составило $7,56 \pm 2,56 \times 10^9/\text{л}$, а ЛЭА — $0,73 \pm 0,49 \times 10^9/\text{л}$; при степени тяжести, равной 5–10 баллам, — $8,94 \pm 3,22 \times 10^9/\text{л}$ и $0,74 \pm 0,61 \times 10^9/\text{л}$ соответственно; при тяжелом инсульте (свы-

ше 10 баллов NIHSS) — $10,31 \pm 4,15 \times 10^9/\text{л}$ и $1,27 \pm 0,91 \times 10^9/\text{л}$ соответственно ($p < 0,001$).

Изучение коррелятивных связей между выраженностью лейкоцитоза и количеством лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов, показало, что наибольший коэффициент корреляции связывает данные показатели при степени тяжести ОНМК свыше 10 баллов ($r=0,71$), в меньшей степени эти показатели коррелируют при тяжести инсульта от 5 до 10 баллов ($r=0,68$) и при легкой степени тяжести ОНМК (NIHSS менее 5 баллов) ($r=0,67$). Кроме этого, нами исследовалась взаимосвязь изменений показателей коагулограммы и феномена эндогенного ауторозеткообразования (табл. 3).

Таблица 3.

**Изменение показателей коагулограммы в зависимости от количества ЛЭА в крови
больных разными типами ОНМК, $m \pm \sigma$**

Показатели крови	Больные ишемическим инсультом ($n=55$)	Больные геморрагическим инсультом ($n=17$)
ЛЭА в 1 литре крови (абс.)	$0,79 \pm 0,66$	$0,99 \pm 0,65^{**}$
Фибриноген, г/л	$402,6 \pm 99,93$	$431,19 \pm 159,35^{**}$
АЧТВ, сек.	$29,61 \pm 4,83$	$30,41 \pm 8,13$
D-димеры, мкг/мл	$1,32 \pm 0,89$	$1,9 \pm 1,3^{***}$
МНО	$0,98 \pm 0,64$	$1,28 \pm 0,87^{**}$

Примечание: *** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$ — достоверность различий между группой пациентов с ишемическим инсультом и группой пациентов с геморрагическим инсультом

Изучение коррелятивных связей между показателями коагулограммы и количеством лейкоцитов, вступивших в процесс образования ЛЭА, показало, что сильная коррелятивная связь наблюдается между количеством лейкоцитов и уровнем D-димеров при геморрагическом инсульте ($r=0,75$), слабая корреляция выявлена между количеством лейкоцитов и уровнем D-димеров, а также концентрацией фибриногена при ишемическом инсульте ($r=0,43$) и количеством ЛЭА и длительностью АЧТВ при геморрагическом инсульте ($r=0,34$).

При исследовании влияния феномена ауторозеткообразования на показатели спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов выявлена сильная корреляционная связь между количеством лейкоцитов, вступающих в процесс образования ЛЭА и спонтанной агрегацией тромбоцитов, а также агрегацией на АДФ у пациентов с летальным исходом ($r=0,77$). Слабая корреляционная связь отмечена между процессом образования ЛЭА и агрегацией тромбоцитов (как спонтанной, так и индуцированной) в группе выживших пациентов ($r<0,29$) (табл. 4).

Таблица 4.

Изменение показателей агрегации (опт. ед.) тромбоцитов в зависимости от количества ЛЭА в крови больных ОНМК с разным исходом заболевания, $m \pm \sigma$

Показатели	Группа пациентов с летальным исходом (n=8)	Группа пациентов с благоприятным исходом (n=107)
Количество ЛЭА в 1 литре крови (абс.)	2,17±0,85	0,73±0,52***
Спонтанная агрегация	1,44±0,58	1,28±0,42**
Агрегация, индуцированная АДФ, 2,5 мг/мл	7,76±3,64	7,66±3,23
Агрегация, индуцированная адреналином, 1,25мкг/мл	5,77±2,28	5,35±2,17**
Агрегация, индуцированная ристомидином, 0,8мг/мл	6,97±2,76	6,48±2,3**

Примечание: *** – $p<0,001$, ** – $p<0,01$ — достоверность различий между группой пациентов с летальным исходом и группой пациентов с благоприятным исходом.

Обсуждение

Известно, что основным триггером развития внутрисосудистого свертывания крови является тканевой фактор (TF), экспрессируемый активированными эндотелиальными клетками, моноцитами и макрофагами [8–10, 17, 18]. В последнее время высказываются предположения, что экспрессировать TF способны также и нейтрофилы [16]. С увеличением числа лейкоцитов, как нейтрофилов, так и моноцитов, экспрессия TF усиливается, что способствует повышению прокоагулянтных свойств крови. Более того, исследованиями Н. V. Barron и соавт. [13] показано, что с увеличением числа лейкоцитов возрастает резистентность тромбов к действию фибринолитических агентов. Исходя из сказанного становится понятным, почему с увеличением числа лейкоцитов возрастает летальность в группе больных как с ишемическим, так и геморрагическим инсультом.

Неблагоприятным фактором в развитии ОНМК следует считать увеличение числа лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов, способствующих закупориванию капилляров и нарушению мозгового кровообращения. Образовывать ЛЭА способны лишь активированные лейкоциты, экспрессирующие TF [7, 16–18]. При этом лейкоциты экспрессируют адгезивные молекулы и выделяют протеолитические ферменты, что способствует разрушению окружающих тканей и усилению процессов коагуляции. Неблагоприятным фактором в развитии ОНМК является наличие экзоцитарного лизиса эритроцитов, ведущего к отрыву клеточных мембран с образованием микровезикул, несущих отрицательно заряженные фосфолипиды, на которых разворачиваются процессы образования фибриновых сгустков [5, 8].

Вместе с тем наличие высокой смертности при лейкоцитозе у больных с ОНМК объ-

ясняется способностью белых клеток крови не только экспрессировать ТФ [16], но и оказывать повреждающее влияние на эндотелий сосудов при атеросклерозе [14]. Это действие может осуществляться благодаря усилению нейтрофильными гранулоцитами и моноцитами свободно-радикальных процессов. В частности, установлено, что высвобождение миелопероксидазы из азурофильных гранул нейтрофилов ведет к перераспределению активных форм кислорода, благодаря чему возрастает цитотоксическая активность клеток. Кроме того, миелопероксидаза участвует в образовании в нейтрофилах мощного окислителя — хлорноватистой кислоты, при взаимодействии которой с липидными радикалами могут образовываться активные галоидные радикалы. Все это в конечном итоге может сопровождаться не только подавлением гликолиза и разобщением окислительного фосфорилирования, но и угнетением основных мембрансвязанных ферментов. Наконец, снижение активности глутатионредуктазы в нейтрофилах может быть обусловлено торможением гликоли-

за и ферментов пентозофосфатного пути соединениями альдегидной природы, что сопровождается накоплением лактата в клетках и снижением уровня НАДФН, необходимого для восстановления окисленного глутатиона. В то же время падение уровня глутатиона приводит к окислению сульфгидрильных групп белков эритроцитарных мембран и внутрисосудистому разрушению эритроцитов [6, 14]. Не менее сильное повреждающее действие непосредственно на ткань мозга оказывают протеиназы лейкоцитов.

В свою очередь высвобождение из разрушающихся эритроцитов АДФ и появление осколков клеточных мембран (микровезикул), обладающих свойствами парциального тромбопластина [9, 10], замыкает порочный круг, способствующий агрегации тромбоцитов, формированию фибриновых сгустков, и, как следствие, ухудшению течения патологического процесса.

Полученные данные свидетельствуют о чрезвычайно важной роли лейкоцитов в процессе развития острого нарушения мозгового кровообращения.

Список литературы

1. Бельченко Д. И., Есипов А. В., Кривошеина Е. Л. Активация межклеточных взаимодействий в циркулирующей крови и микроциркуляция / Региональное кровообращение и микроциркуляция. — 2005. — № 4. — С. 53–57.
2. Волков В. С., Коричкина Л. Н., Соловьев А. В. О роли внутрисосудистого розеткообразования в формировании анемии у больных с хронической сердечной недостаточностью / Тер. арх. — 2006. — № 11 — С. 54–55.
3. Волков В. С., Коричкина Л. Н. Динамика ауторозеткообразования в периферической крови у больных гипертонической болезнью на фоне лечения / Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2007. — № 7. — С. 10–12.
4. Галахова Н. И., Помников В. Г., Белошапкина Е. В., Юсупова А. Н. Эффективность профилактики церебральных сосудистых поражений у больных в амбулаторных условиях / Материалы X Всероссийского съезда неврологов. — 2012. — С. 46.
5. Зубаиров Д. М., Зубаирова Л. Д. Роль микровезикул в гемостазе – новое направление в изучении патофизиологии гемостаза / Вестник гематологии. — 2005. — № 2. — С. 15–20.
6. Кратнов А. Е., Хабарова И. В. Изменение внутриклеточного метаболизма нейтрофилов и смертельный исход при ишемической болезни сердца / Клини. лаб. диагн. — 2009. — № 1 — С. 20–22.
7. Кузник Б. И. Защитная и патологическая роль тканевого фактора и сериновых протеиназ при развитии гиперкоагуляции и ДВС-синдрома / В кн. Проблемы патологии системы гемостаза. Барнаул. — 2007. — № 99. — С. 111.
8. Кузник Б. И., Кузменко Е. Л. Сравнительное действие лейкоцитов здоровых людей и больных хроническим лимфаденозом и миелозом на свертываемость крови / Проблемы гематологии и переливания крови. — 1971. — № 6. — С. 31–35.
9. Кузник Б. И., Васильев Н. В., Цыбиков Н. Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма / М.: Медицина — 1989. — 320 с.
10. Кузник Б. И., Скипетров В. П. Форменные элементы крови, сосудистая стенка, гемостаз и тром-

боз / М.: Медицина — 1974 — 308 с.

11. Кузник Б. И., Морозова И. Ю., Роднина О. С., Страмбовская Н. Н., Ширшов Ю. А. Лейкоцитозы и исходы острого нарушения мозгового кровообращения / Журнал неврологии и психиатрии. — 2010. — № 3. — С. 10–14.

12. Луцкий М. А. Особенности клинического течения и лечение ишемического инсульта на современном этапе / Материалы X Всероссийского съезда неврологов. — 2012. — С. 110.

13. Barron H. V., Harr S. D., Radford M. J. et al. The association between white blood cell count and acute myocardial infarction mortality in patients ≥ 65 years of age / J. Am. Coll. Cardiol. — 2001. — № 38. — P. 1654–1661.

14. Collier B. S. Leukocytosis and Ischemic Vascular Disease Morbidity and Mortality / Arteriosclerosis,

Thrombosis and Vascular Biology. — 2005. — № 25. — P. 658–685.

15. Jia E., Yang Z., Yuan B. et al. Relationship between leucocyte count and angiographical characteristics of coronary atherosclerosis / Acta pharmacol. — 2005. — № 9. — P. 1057–1062.

16. Nakamura S., Imamura T., Okamoto K. Tissue factor in neutrophils: yes! / J. of Thrombosis and Haemostasis. — 2004. — V 2, № 2. — P. 214–217.

17. Osterud B., Bjorklid E. The tissue factor pathway in disseminated intravascular coagulation / Semin. Thromb. Hemost. — 2001. — № 27. — P. 605–17.

18. Osterud B., Rao L. V., Olsen J. O. Induction of tissue factor expression in whole blood: lack of evidence for the presence of tissue factor expression in granulocytes / Thromb. Haemost. — 2000. — № 83. — P. 861–867.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тромбофилии при ревматоидном артрите: гемореологический аспект, возможности медикаментозной коррекции

В. Г. Лычев, А. В. Андриенко, В. В. Усынин, Д. С. Бубликов, И. В. Лычева

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения России», г. Барнаул

Статья посвящена гемореологическим аспектам тромбофилий при ревматоидном артрите и перспективам их медикаментозной коррекции. Нарушение реологических характеристик крови больных ревматоидным артритом выражается в виде повышения вязкости цельной крови и плазмы, а также повышения коэффициента жесткости эритроцитов. На фоне данных реологических изменений происходит повышение спонтанной эритроцитарной агрегации. С целью коррекции выявленных нарушений вязкостных свойств крови целесообразно применение реопротектора — пентоксифиллина (Трентал®, Sanofi aventis), на фоне чего статистически значимо снижается вязкость крови, коэффициент жесткости эритроцитов и их спонтанная агрегация.

Ключевые слова

Ревматоидный артрит, гемореология, вязкость крови, вязкость плазмы, коэффициент жесткости эритроцитов, спонтанная и стимулированная агрегация эритроцитов, иммунный васкулит, пентоксифиллин.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) характеризуется высоким процентом распространенности (0,6% населения России), поражением лиц трудоспособного возраста и неуклонно-прогрессирующим течением с ранней инвалидизацией и преждевременной смертностью [1, 2]. При этом причина смертности больных РА заключается в смерти от атеротромботических осложнений болезней системы кровообращения [3]. Для системного РА лидирующей причиной инвалидизации и смертности являются тромботические осложнения иммунного васкулита [4, 5]. Кроме влияния «классических» факторов риска (ФР) кардиоваскулярной патологии на развитие атеротромботических событий, больные РА подвержены воздействию «внутринозологических» ФР: хронический воспалительный фон, развитие мультифокального васкулита, побочное действие глюкокортикоидов, нестероидных противовоспалительных средств, иммунодепрессантов и цитостатиков. Эти «новые» ФР сосудистой патологии способны запускать каскад повреждения эндотелия, вызывать проатероген-

ный сдвиг липидограммы и протромботический сдвиг в системе гемокоагуляции [6, 7]. Эндотелиальная дисфункция, возникающая у больных РА, способствует формированию нарушений гемодинамики атеросклеротического генеза, вызывающих стаз крови [8]. Иммунный васкулит при РА в своем патогенезе имеет общие черты с «триадой R. Virchow», а именно: повреждение эндотелия, стаз крови и прокоагуляционные изменения в системе гемостаза. Таким образом, РА сам по себе является ФР атеротромбоза. Исходя из вышесказанного, целесообразно в схему ведения больных РА включать препараты, оказывающие протективное воздействие на систему микроциркуляции крови. Однако для целенаправленного и обоснованного их назначения необходимо детальное исследование всех аспектов системы гемостаза и гемореологии при РА.

На сегодняшний день достаточно подробно описаны циркулирующие в сыворотке крови больных РА маркеры гиперкоагуляции по системе «классических факторов» гемостаза [6].

Однако в литературе имеется мало сведений об изменении реологических свойств крови при РА, в то время как изменение вязкостных характеристик крови является фактором риска значимых нарушений гемодинамики [7, 8]. Таким образом, для своевременной профилактики, диагностики и рационального лечения сердечно-сосудистых осложнений РА требуется пристальное внимание не только к «классическим» ФР атеротромбоза и плазменным коагуляционным факторам гемостаза, но и к «новым» ФР, в том числе к изменениям реологии крови, с целью снижения частоты инвалидизации и смертности больных РА.

Целью исследования стало изучение особенностей реологических параметров крови у больных РА и путей медикаментозной коррекции выявленных нарушений для предупреждения тромботических осложнений системного иммунного васкулита.

Пациенты и методы

В исследование нами были включены две группы — основная, куда вошли пациенты с документированным РА ($n=75$), находящиеся на стационарном лечении в городском ревматологическом центре г. Барнаула, и контрольная, состоящая из лиц без проявлений суставных

заболеваний по данным расспроса, анамнеза и медицинской документации ($n=85$). Критериями включения в основную группу стало наличие документированного РА, длительность заболевания более одного года, серопозитивность по ревматоидному фактору II–III степень активности и II–III рентенологическая стадия. Критериями исключения из обеих групп стали возраст старше 70 лет, декомпенсация сопутствующей патологии, онкологические заболевания, беременность. В исследование были включены лица женского пола по причине наличия гендерных различий в частоте встречаемости РА среди женской популяции и большей распространенности системного иммунного васкулита среди мужчин, больных РА [9]. Средний возраст лиц основной группы составил $57,04 \pm 5,24$ года, что было сопоставимо с группой контроля, где средний возраст был равен $53,21 \pm 2,11$ года. Оценка гемореологического статуса проводилась на вискозиметре авторской конструкции (Усынин В. В., Пронин С. П., 1992) с определением параметров вязкости цельной крови (ВК) и вязкости плазмы (ВП) в объемных единицах, жесткости эритроцитов (ЖЭ), спонтанной (СПА) и стимулированной агрегации эритроцитов (СТА) в условных единицах.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи программ Microsoft Excel-2003, Statsoft «Statistica 6.0», с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В основной группе ВК составила $2,95 \pm 0,54$ о.е., что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля, где ВК достигла $1,73 \pm 0,43$ о.е. ($p < 0,05$). В отношении ВП также получены статистически значимые различия между группой контроля, где она составила $1,18 \pm 0,33$ о.е. и основной группой, в которой зафиксировано повышение ВП до $2,79 \pm 0,77$ о.е. ($p < 0,05$). ЖЭ в группе больных РА приблизилась к $3,45 \pm 0,43$, что было статистически значимо выше, чем в группе контроля, в которой ЖЭ была на уровне $1,18 \pm 0,24$ ($p < 0,01$). СПА в основной группе составила $5,32 \pm 1,12$ у.е., что было статистически значимо выше по сравнению с группой контроля, где СПА равнялась $3,1 \pm 0,62$ у.е. ($p < 0,05$). В отношении СТА мы не получили статистически значимых различий между исследуемыми группами (рис. 1).

Таким образом, в группе больных РА наблюдается статистически значимое повышение ВК за счет возрастания как ВП, так и ЖЭ.

По результатам проведенного исследования реологических свойств крови больных РА можно предполагать, что повышенная агрегация эритроцитов является следствием повышения ЖЭ за счет осаждения коллоидов сыворотки и изменения деформируемости мембран эритроцитов. Таким образом, с целью коррекции повышенной агрегационной способности эритроцитов больным РА целесообразно назначать эритроцитарные антиагреганты, одним из которых является пентоксифиллин (Трентал®, Sanofi aventis). С целью коррекции выявленных реологических нарушений данный препарат был назначен нами в основной группе в начальной суточной дозе 600 миллиграммов.

На фоне применения пентоксифиллина (Трентал®, Sanofi aventis) (рис. 2) СпА составила $3,43 \pm 1,12$ у.е., что было статистически значимо ниже по сравнению со СпА до назначения эритроцитарного антиагреганта, составлявшей $5,32 \pm 1,12$ у.е. ($p < 0,05$). СтА имела тенденцию к повышению, однако статистической значимости между полученными данными до применения препарата и на фоне его применения получено не

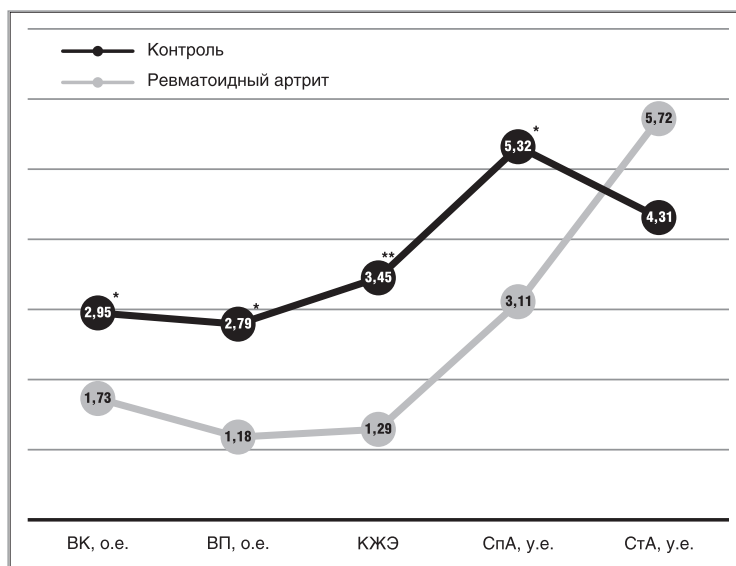


Рис. 1. Гемореограмма больных ревматоидным артритом в сравнении с группой контроля.

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$,
** – различия статистически значимы при $p < 0,01$

было ($p > 0,05$). ВК на фоне применения пентоксифиллина (Трентал®, Sanofi aventis) статистически значимо снизилась с $2,95 \pm 0,54$ о.е. до $1,92 \pm 0,33$ о.е. ($p < 0,05$). Показатели ВП на фоне применения препарата по сравнению с показателями ВП до его применения статистически значимо не изменились ($p > 0,05$). ЖЭ на фоне снизился до $1,15 \pm 0,12$, что оказалось статистически значимо по сравнению с показателями до его применения, составлявшими $3,45 \pm 0,43$ ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом, РА ассоциируется с развитием гемореологической тромбофилии, выражающейся в повышении вязкостных свойств цельной крови и плазмы, снижении деформируемости эритроцитов, что проявляется в виде повышения ЖЭ и СпА.

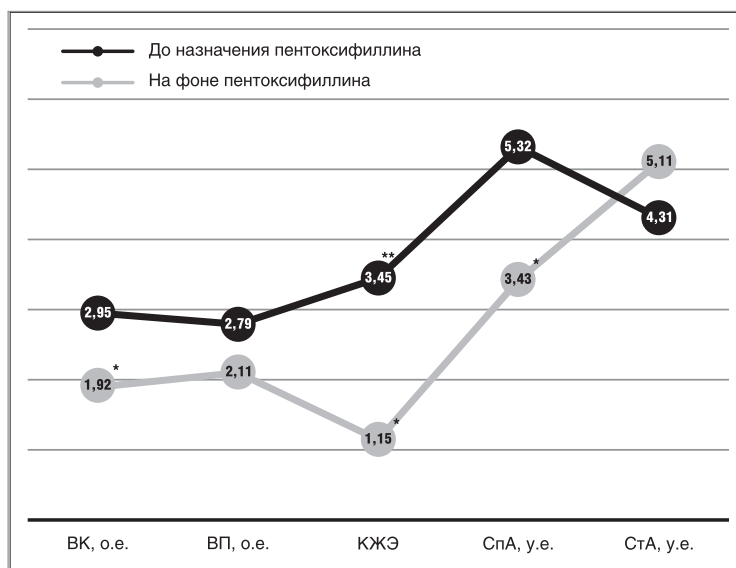


Рис. 2. Гемореограмма больных ревматоидным артритом на фоне применения пентоксифиллина.

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$

Для фармакологической коррекции выявленных нарушений целесообразно назначать эритроцитарные антиагреганты, в частности пентоксифиллин (Трентал®, Sanofi aventis) в начальной суточной дозе 600 миллиграммов. Для контроля эффективности проводимой терапии необходимо исследование гемореограммы в динамике с возможной коррекцией дозировки препарата.

Список литературы

1. Фоломеева О. М., Галушко Е. А., Эрдес Ш. Ф. Распространенность ревматических заболеваний в популяции населения России и США // Научно-практическая ревматология. — 2008. — № 4. — С. 4–14.
2. Gabriel S. E. The epidemiology of rheumatoid arthritis // Rheum. Dis. Clin. North Amer. — 2001. — Vol. 27. — P. 269–281.
3. Hall F. C., Dalbeth N., Disease modification and cardiovascular risk reduction: two sides of the same coins? // Rheumatology — 2005. — Vol. 4. — P. 2–10.
4. Kaplan MJ. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis // Curr. Opin. Rheumatol. — 2006. — Vol. 18. — P. 289–297.
5. Gonzales-Gay M. A. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis / Gonzales-Gay M. A., Gonzalez-Juanatey C., Miranda-Fillooy J. A., Garcia-Porrúa C., Llorca J., Martin J. // Biomed Pharmacother. — 2006. — Vol. 60. — P. 673–677.
6. Куковякин А. А. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза у больных ревматоидным артритом: Автореф. дис. канд. мед. наук / А. А. Куковякин. — Новосибирск, 2000. — 23 с.
7. Durussel J. J. Effects of red blood cell hyperaggregation on the rat microcirculation blood flow / Acta Physiol. Scand. — 1998. — Vol. 163. — № 1. — P. 25–32.
8. Фатенков В. Н. Нарушения в структуре мембран эритроцитов у больных инфарктом миокарда / В. Н. Фатенков, Е. Г. Зарубина, М. Н. Милякова // Кардиология. — 2002. — № 6 — С. 54–57.
9. Балабанова Р. М. Ревматоидный артрит с системными проявлениями: Автореф. дис. д-ра мед. наук / Р. М. Балабанова. — М., 1990. — 36 с.

Нарушения в системе протеина С у больных с антифосфолипидным синдромом

А. Н. Мамаев, А. П. Момот

Алтайский филиал ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

Антифосфолипидный синдром (АФС) является наиболее частой разновидностью тромбофилий вследствие иммунных нарушений. При АФС обнаруживают в высоком титре антитела к содержащимся в плазме отрицательно заряженным мембранным фосфолипидам и/или волчаночный антикоагулянт.

В результате исследований последних лет установлено, что протеин С является одним из основных физиологических антикоагулянтов, при активации которого происходит протеолитическая деградация основных акцелераторов коагуляционных реакций — факторов V и VIII. Установлено также, что эти биохимические реакции проходят на фосфолипопротеидных мембранах, а функциональная активность последних снижена при антифосфолипидном синдроме (АФС). Именно поэтому считается, что в этиологии тромботических нарушений при АФС большое значение имеет функциональная неполноценность антикоагулянтной системы протеина С.

Для оценки функциональной способности антикоагулянтной системы протеина С использовали способ, основанный на способности активатора протеина С, полученного из яда щитомордника, удлинять время свертывания в АПТВ-тесте (Парус-тест, производитель «Технология-Стандарт»). Исследовали бедную тромбоцитами плазму 29 больных с АФС в возрасте от 18 до 39 лет. Диагноз АФС устанавливали на основе выявления у больных с тромбозами, инфарктами, невынашиванием беременности и другими тромботическими нарушениями волчаночного антикоагулянта (ВА). Сравнение проводили с группой 35 больных с тромботическими нарушениями, причина которых не была установлена и с контрольной группой, из 30 здоровых людей.

Функциональная неполноценность антикоагулянтной системы протеина С была выявлена у 20 из 29 больных с АФС. Показатель NR в целом по группе больных с АФС был равен $0,66 \pm 0,05$ ($n=28$) и достоверно отличался от аналогичного показателя в группе больных с тромбозами без АФС $0,97 \pm 0,04$ ($P < 0,001$) и от контрольной группы здоровых людей $0,99 \pm 0,03$ ($P < 0,001$).

Полученные результаты свидетельствуют о глубоких нарушениях в антикоагулянтной системе протеина С и их высокой частоте у больных с АФС.

По своей структуре волчаночный антикоагулянт (ВА) относится к иммуноглобулинам, которые неспецифично ингибируют отрицательно заряженные фосфолипиды и тем самым удлиняют время свертывания крови в фосфолипидзависимых методах исследования системы гемостаза [З. С. Баркаган, 1989–2005; З. С. Баркаган и соавт., 1989–2001; Е. Л. Насонов и соавт., 1995; В. П. Балуда, М. В. Балуда, 1997; Г. В. Сердюк, 2005; M. Samama et al., 1993; D. G. Federman et al., 2001; J. Nojima et al., 2002; L. Heilmann et al., 2003; B. Namjou, 2003; S. L. Perry et al., 2003 и др.]. Кроме того, инактивация фактора V протеинами С и S также происходит на фосфолипидных мембранах [E. A. Norstrom et al., 2003], и поэтому ВА препятствует этому процессу. Высказывается предположение, что к развитию тромботических осложнений у больных с АФС приводит именно нарушение инактивации фактора Va активированным протеином С [F. J. Munoz-Rodriguez et al., 2002; D. Oh et al., 2003]. Для уточнения этого предположения мы определяли эффективность системы протеина С у больных с АФС при помощи разработанного нами метода.

Показатели NR у группы больных с АФС в

контрольной группе и группе сравнения представлены на рисунке 1.

Из рисунка видно, что у больных с АФС ($n=51$) показатель NR в среднем составил $0,68 \pm 0,03$, тогда как в группе сравнения этот показатель был равен $0,98 \pm 0,03$ ($n=165$, $P < 0,001$), т.е. так же, как и в контрольной группе, $1,01 \pm 0,01$ ($n=147$). Эти данные подтверждают важную роль нарушений в системе протеина С в формировании тромбогенности у больных с АФС.

После курса комплексного лечения, включающего применение дискретного плазмафереза, антикоагулянтов и дезагрегантов, показатель NR у больных с АФС достоверно повысился с $0,68 \pm 0,03$ до $0,77 \pm 0,02$ ($P < 0,02$).

Представленные данные свидетельствуют о том, что у больных с АФС имеются глубокие нарушения в антикоагулянтной системе протеина С, которые устраняются после комплексного лечения с включением дискретного плазмафере-

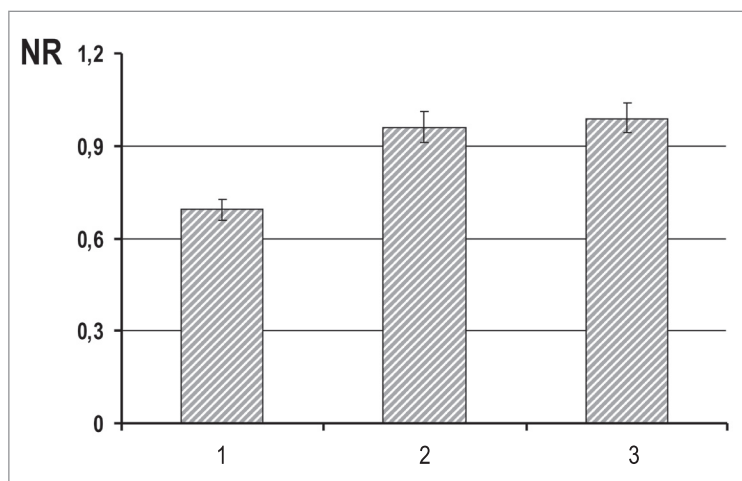


Рис. 1. Показатели NR, полученные у больных с АФС (1), в группе больных с тромбозами без АФС (2) и у здоровых людей (3).

за в комплекс лечебных мероприятий.

Для выявления связи рецидивирования тромбозов при АФС и нарушений в системе протеина С мы использовали статистический критерий χ^2 . Было установлено, что из числа больных с АФС ($n=51$) нарушения в системе протеина С имелись у 24 больных. Из их

числа рецидивы тромбозов были выявлены у 16 пациентов, а из 27 больных без нарушений в системе протеина С рецидивы тромбозов были обнаружены лишь у 6 больных. Частотный анализ показал связь нарушений в системе протеина С и рецидивов тромбозов у больных с АФС ($P=0,0014$).

Таким образом, в патогенезе рецидивов тромбозов у больных с АФС большое значение имеет нарушение функционирования антикоагулянтной системы протеина С, а показатель NR является прогностическим критерием рецидивирования тромбозов при этом заболевании.

Список литературы

1. Баркаган З. С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Проблемы гематол. и перелив. крови. — 1996. — № 3. — С. 5–15.
2. Баркаган З. С. Учение о тромбофилиях на современном этапе. // Консилиум, 2000, № 6, С. 61–65.
3. Баркаган З. С., Белых С. И. Дефицит протеина С и политромботический синдром, сцепленный с беременностью и невынашиваемостью плода. // Гематол. и трансфузиол. — 1992. — № 9–10. — С. 35–37.
4. Баркаган З. С., Белых С. И., Карпенко А. А. Клиническая характеристика, осложнения и проблемы терапии дефицита протеина С // Тер. архив. — 1993. — Т. 65. — № 7. — С. 58–61.
5. Баркаган З. С., Гервазиев В. Б., Цывкина Л. П. и др. Первый опыт диагностики тромбофилии, обусловленной резистентностью к активированному протеину С. // Тер. архив. — 1997. — № 2. — С. 35–37.
6. Баркаган З. С., Момот А. П. — Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: «Ньюдиамед-АО», 2001. — 296 с.
7. Баркаган З. С., Момот А. П. Классификация и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Клиническая лабораторная диагностика, 1999, № 10, С. 38.
8. Баркаган З. С., Цывкина Л. П., Мамаев А. Н. Способ диагностики тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора V к активированному протеину С. Патент РФ № 2129282 от 20.04.1999 г. (Приоритет от 05.08.96.).
9. Баркаган З. С., Цывкина Л. П., Мамаев А. Н., Цеймах И. Я. Распространенность, диагностика и клиническое значение тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора Va к активированному

протеину С. // Вестник Российской академии медицинских наук. — 1997. — № 2. — С. 39–41.

10. Баркаган З. С., Цывкина Л. П., Мамаев А. Н., Цеймах И. Я. К методике фенотипической диагностики резистентности к протеину С. // В кн: Тезисы докладов на III Всероссийской конференции «Тромбозы и геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения». — Москва, 1997. — С. 18–20.

11. Момот А. П., Ельчанинов В. В., Соколов Э. А., Мамаев А. Н., Коваль А. Д. Способ получения активатора протеина С. Приоритетная справка на изобретение № 2000130028, входящий № 031901, от 30.10.2000.

12. Мамаев А. Н., Момот А. П. Способ дифференциальной диагностики тромбофилий, обусловленных нарушениями в антикоагулянтной системе РС-PS-FVa. // Клиническая лабораторная диагностика, № 10, С. 46.

13. Папаян Л. П., Кобилянская В. А., Папаян К. А. Патогенез и проблемы диагностики тромбофилий. // В сб. «Лабораторные аспекты диагностики нарушений гемостаза», под редакцией Н. Н. Петрищева, Л. П. Папаян, СПб, 1998. — С. 3–12.

Клиническая апробация критериев риска тромбообразования у детей с реализованными тромбофилиями

А. В. Суворова¹, М. А. Колесникова², Л. А. Строзенко¹, Н. А. Дорохов¹

¹ – ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул

² – КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая детская больница». Центр здоровья для детей, г. Барнаул

За последние годы в связи с внедрением в практику методов определения полиморфизмов генов, кодирующих синтез факторов, определяющих риск тромбообразования (V фактор Лейден, фибриноген, протромбин, PAI-1, и MTHFR), появились значительные когорты населения: беременные женщины, дети, люди пожилого возраста, перенесшие инсульт, с уже выявленными тромбогенными мутациями [2, 3, 5, 6]. Именно это определило поиск путей решения следующей задачи — выделение критериев риска тромбообразования в каждой когорте. Для того чтобы определить критерии риска тромбообразования в детском возрасте, мы провели анализ анамнестических, объективных и лабораторных данных у 58 детей с реализованными тромбофилиями.

Клиническая характеристика исследуемых групп больных

Были выделены две группы: I группа — группа высокого риска (тромбозы крупных сосудов, инсульты, инфаркты, n=25); II группа — группа стандартного риска (транзиторные ишемические атаки, острые нарушения мозгового кровообращения, синдром Рейно, n=33). Возраст обследованных детей — от трех месяцев до восемнадцати лет. В качестве контрольной группы были использованы результаты обследования 25 детей без клинических проявлений тромбообразования, но с выявленными тромбогенными мутациями. Были определены относительный риск (ОР) и отношения шансов (ОШ), в качестве негативного исхода были избраны верифицированные и визуализированные у больных тромбозы, эмболии и сосудистые нарушения.

Таблица 1.

Фактор риска
1. Личный тромботический анамнез
2. Семейный тромботический анамнез
3. Полиглобулия с повышением вязкости крови
4. Бронхиальная астма
5. Узловой, кистозный зоб
6. Хронический пиелонефрит
7. Аритмия
8. Ожирение (ИМТ > 25)
9. Артериальная гипертензия
10. Нейроциркуляторная дистония
11. Мигрени, обмороки
12. Остеохондроз
13. Порок сердца
14. Сахарный диабет
15. Варикозная болезнь
16. Системные аутоиммунные заболевания
17. Злокачественные новообразования
18. Черепно-мозговая травма, перелом позвоночника с гиподинамией
19. Клинические проявления мезенхимальной дисплазии
20. Ангиоцеребральная недостаточность и венозная центральная дисфункция
21. Часто болеющие острыми респираторными инфекциями
22. Нарушение менструального цикла
23. Прием эстрогенов
24. Занятие игровыми видами спорта
25. Курение

Методы исследования

Для диагностики сосудистых аномалий у детей применили метод цветового дуплексного сканирования сосудов на ультразвуковом сканере Spectra Masters (Diasonics, США). Во всех случаях для подтверждения ОНМК (острых нарушений мозгового кровообращения) больным проводилась компьютерная томография (КТ) либо магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга [8, 13]. Оценка неврологического статуса включала определение степени нарушения сознания, выявление поражений черепно-мозговых нервов, нарушений двигательной и чувствительной функции, исследование спинномозговой жидкости. При объективном осмотре определялись фенотипические признаки синдромов дисплазии соединительной ткани [1, 13]. В план обследования последовательно были включены общий анализ крови на гематологическом анализаторе, определение гомоцистеина в крови и полиморфизма генов, кодирующих синтез протромбина, гена ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1), метилтетагидрофолатредуктазы (МТГФР), V фактора (Лейден) [10, 15, 16, 17].

Генетическое исследование системы свер-

тывания крови методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) проводилось с использованием системы «SNP-экспресс» — комплекта реагентов для выявления мутаций (полиморфизмов) в геноме человека. Анализу подвергалась геномная ДНК человека, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь». С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации — с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

Критерии риска тромбообразования, предложенные для подростков в амбулаторных условиях (табл. 1), мы разделили на три группы: анамнестические, объективные и лабораторные, а также внесли несколько новых критериев по тем признакам, которые наблюдались у большинства детей I и II групп сравнения [1, 4, 7, 9, 11, 14, 18, 19].

Так как ни в группе контроля, ни у детей с реализованными тромбофилиями не было выявлено пациентов с такими факторами риска, как прием контрацептивов, сахарный диабет, злокачественные новообразования, гипертоническая болезнь, мы не внесли их в анализ и таким образом, количество анализируемых критериев сократилось до 14 (табл. 2).

Таблица 2.

Диагностическая эффективность критериев риска тромбообразования у детей с реализованными тромбофилиями

Критерии риска	ОР I группа (n=25)	ОР II группа (n=33)	ОШ I группа (n=25)	ОШ II группа (n=33)
Тромботический анамнез	2,0	0,76	2,19	0,74
Ожирение	0,66	0,50	0,61	0,45
Заболевания почек	11,0	6,82	18,86	9,0
Сосудистые аномалии	15,0	18,18	36,0	64,0
Нарушение ритма сердца	3,0	3,79	3,27	4,29
Обмороки, потеря сознания	1,17	0,38	1,23	0,32
Судороги, в том числе в анамнезе	12,0	6,82	22,1	9,0
ВПС + ПМК	4,0	6,0	4,57	7,68
Преходящие нарушения зрения	9,0	1,52	7,68	13,56
Черепно-мозговая травма	2,0	0,76	2,09	0,75
Дисплазии соединительной ткани	1,04	2,0	1,91	6,75
Полиглобулия	16,67	23,33	33,61	80,0
Гипергомоцистеинемия	19,23	23,68	80,0	42,3
Мужской пол	7,5	10,23	17,25	51,75

Так как $OP < 1,0$ для негативного исхода свидетельствует об отсутствии эффективности анализируемого критерия, мы исключили такие варианты, как бронхиальная астма, узловой зоб, ожирение, обмороки и потеря сознания. Из критериев риска, предложенных для взрослых и адаптированных для детской поликлинической службы, весьма эффективными оказались следующие: заболевания почек, нарушения ритма сердца, врожденные пороки сердца. Такой критерий, как черепно-мозговая травма в анамнезе, эффективен только для больных I группы с тяжелыми проявлениями тромбообразования. Характерно, что фенотипические признаки дисплазии соединительной ткани были выявлены

у детей контрольной группы с той же частотой, что и у детей групп сравнения, что показало их низкую эффективность как критерия риска тромбообразования у детей с выявленными полиморфизмами генов тромбофилии и фолатного цикла. Из лабораторных критериев, предложенных для подростков, наиболее высокая эффективность у такого критерия, как полиглобулия (концентрация гемоглобина > 140 г/л). Из вновь предложенных наиболее высокие значения показателей OP и $OШ$ для группы высокого риска показали такие критерии, как судороги, в том числе и в анамнезе, преходящие нарушения зрения, цереброваскулярные аномалии, гипергомоцистеинемия и мужской пол больного ребенка.

Таблица 3.

**Варианты генетических полиморфизмов у детей
с реализованными тромбофилиями в группах сравнения**

Варианты полиморфизмов	Группы сравнения	
	I группа (n=25)	II группа (n=33)
PAI 1 гетерозигота	15 (60%)	22 (66%)
PAI 1 гомозигота	5 (20%)	8 (24%)
MTHFR гетерозигота	10 (40%)	13 (39%)
MTHFR гомозигота	4 (16%)	3 (9%)
Протромбин гетерозигота	1 (4%)	2 (6%)
Протромбин гомозигота	1 (4%)	0
V фактор Лейден гетерозигота	3 (12%)	1 (3%)
Сочетанные мутации — 2 и более	15 (60%)	13 (39%)*

Примечание: достоверность межгрупповых различий определена с помощью критерия Фишера (* – $p=0,05$).

Анализируя данные, приведенные в таблице 3, можно сделать заключение, что тип полиморфизма не является определяющим в степени тяжести реализации тромбообразования, за исключением мутации V фактора Лейден.

Можно отметить, что мутация V фактора Лейден полностью оправдала свою негативную прогностическую репутацию: у трех из четырех детей с этим генетическим полиморфизмом развились тяжелые инсульты с очаговой симптоматикой, неврологическим дефицитом и гемипарезами, у ребенка Г. повторные инсульты случились в возрасте 7 и 9 месяцев, в настоящее время ребенку 2 года, он находится на непрерывной патогенетической профилактике.

Достоверно отличается частота сочетан-

ных мутаций у больных в группах высокого и стандартного риска. Мы намеренно не касаемся результатов обследования больных в области гемостаза, так как критерии риска рассчитываются для применения в амбулаторных условиях.

Были проанализированы 8 переменных у 30 больных с реализацией тромбофилии: возраст, содержание гомоцистеина в крови, концентрация гемоглобина в крови, количество и характер мутаций, клинические проявления тромбозов, аномалии сосудов, в том числе патологические извитости и мальформации сосудов головного мозга, заболевания почек и сердечно-сосудистой системы.

Все генетические полиморфизмы кодировались следующим образом: гетерозиготные —

1 балл, гомозиготные — 2 балла, гетерозиготная мутация V фактора Лейден — 2 балла. Каждая из сосудистых аномалий кодировалась — 1 балл; каждый эпизод тромбоза и ОНМК — 1 балл; ТИА — 2 балла; инсульт и инфаркт — 3 балла. Была проведена ранговая корреляция по Spearman с уровнем достоверности $p < 0,05$. Были получены следующие результаты: наиболее сильная взаимосвязь выявлена между возрастом обследованных детей и концентрацией гемоглобина ($r = +0,79$); между концентрацией гемоглобина и гомоцистеина ($r = +0,63$). Корреляция между выраженностью тромбозов и количеством тромбогенных мутаций у детей умеренная, достоверная ($r = +0,37$); корреляцию той же силы выраженность тромбозов имеет с количеством сосудистых аномалий ($r = +0,38$) и заболеваниями почек ($r = +0,37$). Следовательно, по результатам корреляционного анализа имеется сильная взаимосвязь между гипергомоцистемией и эритроцитозом, за исключением детей первых трех лет жизни, у которых часто отмечается железодефицитная анемия. Выраженность тромбообразования в равной степени зависит от количества генетических полиморфизмов, наличия сосудистых аномалий и реологических нарушений у больного ребенка, что полностью

соответствует критериям Р. Вирхова.

Заключение

Клиническая апробация факторов риска тромбообразования у детей с генетическими полиморфизмами генов, кодирующих синтез факторов, определяющих риск тромбозов, показала, что обследование ребенка, рожденного от матери с тромбофилией, необходимо проводить в условиях детской поликлиники, наиболее информативными анамнестическими критериями риска тромбообразования являются судороги и преходящие нарушения зрения. Наиболее эффективные объективные критерии: нарушения сердечного ритма, наличие сосудистых аномалий головного мозга, почек, врожденные пороки сердца, пролапс митрального клапана и мужской пол больного ребенка. Наиболее информативными лабораторными критериями риска тромбообразования являются: концентрация гемоглобина выше 140 г/л и повышение концентрации гомоцистеина в крови выше возрастной нормы (5,8 нмоль/л) [12]. Исследования показателей гемостаза необходимо для определения тактики лечения и патогенетической профилактики, а также для мониторинга и определения эффективности проводимой терапии.

Список литературы

1. Баркаган З. С., Перегудова И. Г., Суханова Г. А., Соломина Т. И. О нарушениях свертывания крови у больных мезенхимальными дисплазиями. Гематология и трансфузиология, 1993; 38 (5). С. 28–30.
2. Бокарев И. Н., Бокарев М. И. Тромбофилии, венозные тромбозы и их лечение. // Клин. мед. — 2002. — № 5. — С. 4–8.
3. Васильев С. А., Виноградов В. Л., Гемджян Э. Г., Орел Е. Б. Сочетанные генетические и приобретенные формы тромбофилий. Материалы IV Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии в сердечно-сосудистой хирургии (с международным участием), 4–6 февраля 2009 года, Москва. С. 84–85.
4. Евтушенко С. К., Евтушенко О. С., Перепеченко Ю. М., Москаленко М. А. Инсульты у детей и их причины. Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова, 2003, 8. С. 30–35.
5. Измайлов Н. А. Этиология, патогенез, клиническая диагностика, дифференциальная диагностика и лечение острых нарушений мозгового кровообращения. // Русский медицинский журнал, 2003. — т. 11 — № 10. — С. 1–8.
6. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика. Руководство для врачей / под ред. Э. А. Суслиной, М. А. Пирадова. М.: МЕДпресс-информ, 2008. — 288 с.
7. Калашникова Б. А., Кокаровцева С. Н., Коваленко Т. Ф. и др. Частота мутации в генах V фактора (V Лейден), протромбина (G202 10A) и 5, 10 метилентгидрофолатредуктазы (C677T) у русских. // Медицинская генетика, 2006. № 5 (7). — С. 27–29.
8. Куликов В. П., Смирнова Ю. В., Смирнов К. В., Сидор М. В. Ультразвуковая и функциональная диагностика патологической извитости внутренних сонных артерий у детей. Ультразвуковая и функциональная диагностика, 2001, 1. С. 71–78.
9. Момот А. П., Строзенко Л. А., Лобанов Ю. Ф.,

Филипенко М. Л. Врожденные и приобретенные факторы тромбогенного риска у подростков — жителей Алтайского края / V научно-практическая конференция «Современная гематология. Проблемы и решения». Тезисы докладов, 2–3 ноября 2011 г., Москва. С. 33–35

10. Момот А. П., Цывкина Л. П., Елыкомов В. А. и соавт. «Ранние ишемические инсульты и гематогенные тромбофилии» (диагностика, лечение, профилактика), Методическое пособие для врачей. Барнаул, 2009. 56 с.

11. Пшеничная К. И., Мельникова Т. А., Люгав Е. В. Геморрагический синдром у детей и подростков с маркерами наследственных тромбофилий. Педиатрия, 2009; 87(4). С. 64–67.

12. Самойлова Ю. Г., Кравец Е. Б., Энерт А. В. Клиническое значение уровня гомоцистеина как фактора риска развития сосудистых осложнений сахарного диабета 1-го типа у детей и подростков // Педиатрия, 2008. — № 5. (т. 87) — С. 6–9.

13. Смирнова Ю. В., Куликов В. П., Суворова А. В. и др. Патологическая извитость внутренних сонных артерий у детей как проявление недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Педиатрия, 2007; 86 (2). С. 39–43.

14. Barreirinho S, Ferro A, Santos M, Costa E, Pinto-Basto J, Sousa A, Sequeiros J, Maciel P, Barbot C, Barbot J. Inherited and acquired risk factors and their combined effects in pediatric stroke. *Pediatr Neurol.* 2003; 28: С. 134–138.

15. Bonduel M., Sciuccati G., Hepner M., Pieroni G., Torres A.F., Mardaraz C., Frontroth J.P. Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutation in children with cerebral thromboembolism. *Am J Hematol.* 2003; 73: P. 81–86.

16. Cardo E., Monros E., Colome C. et al. Children with stroke: polymorphism of the MTHFR gene, mild hyperhomocysteinemia, and vitamin status // *J Child Neurol.* — 2000. — Vol. 15. — P. 295–298.

17. Carolei A., Marini C., Ferranti E. et al. A prospective study of cerebral ischemia in the young: analysis of pathogenic determinants // *Stroke.* — 1993. — Vol. 24. — P. 362–367.

18. Ganesan V., Prengler M., McShane M.A., Wade A.M., Kirkham F.J. Investigation of risk factors in children with arterial ischemic stroke. *Ann Neurol.* 2003; 53: P. 167–173.

19. Kirkham F.J., Prengler M., Hewes D.K., Ganesan V. Risk factors for arterial ischemic stroke in children // *J Child Neurol.* — 2000. — Vol. 15. — P. 299–307.

Иммунологические изменения и С-реактивный белок как предикторы системного воспалительного ответа при беременности

Г. В. Сердюк¹, А. П. Момот, М. Б. Игитова², Е. Н. Воробьева², К. В. Дмитриенко²

¹ – Алтайский филиал ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России», г. Барнаул

² – ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул

Современные методы лабораторных и инструментальных исследований позволяют изучить с ранних этапов беременности формирование развития гестационных осложнений. Немаловажное значение в физиологии и патологии беременности при формировании плаценты играет синдром системного воспалительного ответа, который до настоящего времени остается одним из наименее изученных аспектов.

Исследования, проведенные в этой области рядом авторов, свидетельствуют о том, что локальные процессы воспаления играют ключевую роль на этапе раннего эмбриогенеза, участвуя в регуляции плацентации. Воспалительные реакции при этом неспецифичны и стимулируются повреждением ткани эндометрия, обусловленной инвазией плодного яйца. По данным Н. Egawa et al. (2002) установлено, что в течение первых недель беременности децидуальную ткань матки инфильтрирует большое количество функциональных фагоцитов (макрофагов) и лимфоцитов (натуральных клеток-киллеров). Эти явления, с одной стороны, затрудняют имплантацию оплодотворенной яйцеклетки в эндометрий, с другой — способствуют росту трофобласта и стимуляции ангиогенеза [32].

Большинство воспалительных реакций локализуется в области повреждения, однако в некоторых случаях они могут принимать системный характер. Проведенные в данной области комплексные исследования позволили установить, что даже при нормальной беременности в организме женщины формируется иммунный воспалительный ответ и активация системы комплемента [19, 49, 8, 9]. Выявленные L. Belo et

al. (2005) признаки повышения функциональной активности нейтрофилов при физиологической беременности указывают на то, что даже благоприятное ее течение сопровождается формированием синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) [22]. Однако механизм развития ССВО в ответ на нормально протекающую беременность не до конца ясен, а природа биологических закономерностей, лежащих в основе инициации однотипной системной воспалительной реакции при влиянии как экзогенных, инфекционных, так и неинфекционных, эндогенных факторов, остается вопросом, на который пока нет четкого ответа. Согласно литературным данным, воспаление рассматривается как единая многокомпонентная биологическая реакция, которая формируется *in vivo* в ответ на нарушение «чистоты внутренней среды» многоклеточного организма вне зависимости от этиологии провоцирующего фактора [15]. Существует предположение, что системная воспалительная реакция материнского организма на беременность обусловлена естественными причинами генетической «чужеродности» плода, а филогенетически древние механизмы воспаления, регулируемые эндогенными гуморальными медиаторами, всегда реализуются по единому механизму [16].

В настоящее время все больше данных указывает на то, что патологическая беременность может развиваться вследствие декомпенсации систем, регулирующих системный воспалительный ответ [8, 19, 24, 49].

Ключевым моментом первого триместра беременности является взаимодействие между клетками трофобласта и материнскими тканями

ми, а неадекватный воспалительный ответ может быть причиной самопроизвольного аборта. Причем повышенная секреция провоспалительных цитокинов при невынашивании беременности рассматривается как одна из причин дисфункции этих взаимодействий. Установлено, что устранение дефицита прогестерона увеличивает количество регуляторных цитокинов, блокирующих воспалительный процесс, и способствует улучшению прогноза [12]. Эволюционная целесообразность гестационных воспалительных изменений может быть обусловлена необходимостью ликвидации нездорового потомства путем спонтанного аборта для поддержания генетической полноценности биологического вида [19]. Экспериментальными исследованиями С. Tayade et al. (2006) установлены особенности процесса имплантации и при патологии развития эмбрионов, проявляющиеся отсутствием транскрипции генов, регулирующих ангиогенез, и быстрым возрастанием транскрипции генов провоспалительных цитокинов [53].

Вместе с тем неадекватный воспалительный ответ на фоне беременности может проявляться и более поздними гестационными осложнениями. Так, имеются данные, показывающие, что усиление активности апоптоза периферических мононуклеаров (лимфоцитов и моноцитов) при беременности создает предпосылки для развития агрессивных реакций материнских клеток в отношении тканей плода и плаценты, приводя к формированию синдрома задержки роста плода (СЗРП) [14].

В настоящее время активно изучается роль иммунологических изменений как компонента системного воспалительного ответа в патогенезе гестоза [8, 19]. Исследования, посвященные изучению иммунных нарушений при беременности, осложненной гестозом, указывают на активацию системы комплемента и существенные изменения в клеточном звене иммунной системы [13, 49]. Работы ряда авторов показывают, что при тяжелых формах гестоза выявляется значительное уменьшение субпопуляции Т-лимфоцитов с характеристиками хелперных клеток (CD/4) и увеличение доли Т-клеток-супрессоров (CD/8), происходит снижение индекса иммунорегуляции, преимущественно за счет увеличения содержания CD/8-Т-клеток [9, 13]. Однако в других исследованиях, напротив, отмечается увеличе-

ние иммуно-регуляторного индекса за счет снижения субпопуляции CD/8-лимфоцитов, причем изменения Т-клеточного звена регистрируются не только на стадии клинических проявлений, но и на доклинической стадии гестоза [2]. При гестозе изменяется также активация макрофагального звена иммунной системы, что проявляется высоким уровнем фагоцитарной активности моноцитов, гиперпродукцией фактора некроза опухоли (TNF-а) и значительным увеличением концентрации интерлейкина-6 (IL-6) [9, 13]. Феномен Т-клеточной супрессии и активации полиморфноядерных лейкоцитов является характерным и для нормально протекающей беременности, однако при гестозах эти изменения носят гиперэргический характер [9, 22]. В то же время вопрос об участии клеток моноцитарно-макрофагальной природы в иммунопатогенезе гестоза остается одним из наименее изученных аспектов данной патологии [13]. Среди параметров, характеризующих функцию мононуклеарных фагоцитов, традиционно используется тест на фагоцитарную активность моноцитов и продукцию иммунорегуляторных факторов (IL-1 и TNF-а). Доказано, что функция моноцитов у беременных с гестозом легкой степени характеризуется повышенной фагоцитарной активностью, а при гестозе средней и тяжелой степени — и повышенным уровнем продукции TNF-а [13]. И. Д. Медвинский и соавт. (2000) считают, что дезорганизация иммунного гомеостаза при гестозах является первопричиной генерализованной «цитокиновой атаки» на эндотелиоциты, дисфункция которых определяет тяжесть течения патологического процесса. Поскольку увеличение секреции указанных цитокинов является доказательством активации моноцитов/макрофагов, прогрессирование гестоза происходит по сценарию системной воспалительной реакции [9]. Однако увеличенный уровень TNF-а при физиологической беременности не обнаруживается, и макрофаги, таким образом, включаются в патогенез гестоза только в условиях развившегося поражения эндотелия [6]. Противоречие взглядов на иммунопатогенез гестоза не позволяет составить четкого представления о времени развития и механизме возникновения системных воспалительных изменений на доклинической стадии и в процессе прогрессирования данного осложнения беременности.

Подводя итог анализа проблемы иммунологического гомеостаза при физиологической беременности и гестозе, следует подчеркнуть, что и при нормальной беременности существует первичная воспалительная реакция, активирующая материнские лейкоциты, которая усиливается при гестационных осложнениях, однако «тонкая грань» между нормой и патологией в процессе воспалительного ответа до настоящего времени остается загадкой [19].

В целом роли иммунологических изменений в реализации репродуктивной функции уделяется много внимания, и каждый этап на пути развития нормальной беременности считается подверженным риску, связанному с нарушениями в иммунорегуляции. Исследования различных авторов в этой области дают основания считать, что делать окончательные выводы о ценности иммунологического тестирования рано, поскольку выявляемые изменения иммунологического статуса матери неоднозначны, исследование параметров иммунной системы беременной нередко дает противоречивые результаты и до настоящего времени не находит практического применения [38].

Наиболее информативными маркерами ССВО в организме являются белки острой фазы воспаления. История их изучения началась в 1930 году с открытия В. Тиллетом и Т. Френсисом С-реактивного белка (СРБ, CRP), принадлежащего к эволюционно древнему, жизненно важному семейству белков — пентраксинов. Молекула СРБ состоит из пяти одинаковых субъединиц, нековалентно связанных между собой [3, 11]. Физико-химические свойства и специфичные особенности пентамера позволяют считать его своеобразным вектором, активирующим функции всех клеток соединительной ткани, которые непосредственно реализуют биологическую функцию воспаления [16].

Синтез С-реактивного белка запускается и контролируется целым рядом медиаторов, к наиболее значимым из которых относятся цитокины. Промотор гена СРБ содержит регуляторные элементы, взаимодействующие с интерлейкинами (IL) [11]. Регуляция синтеза белка осуществляется как на уровне транскрипции, так и на посттрансляционном уровне. Основным местом синтеза СРБ являются гепатоциты, повышение уровня белка начинается через 3–6 часов после

изменения гомеостаза. Кроме того, функцию синтеза и секреции СРБ осуществляют мононуклеарные клетки периферической крови (моноциты и лимфоциты), активированные липополисахаридами грамотрицательных бактерий, IL-1, IL-6 и TNF- α [37].

СРБ — это мультифункциональный острофазный белок, играющий важную роль в защите организма от чужеродных агентов при воспалениях, некрозах и аутоиммунных процессах. Исследования функциональной активности СРБ показали, что он способен связывать широкий спектр лигандов — компонентов микроорганизмов, токсинов, частиц поврежденных тканей, препятствуя их распространению. Продукты такого взаимодействия активируют систему комплемента по классическому пути, стимулируя процессы фагоцитоза и удаляя вредные продукты [3]. СРБ в значительных количествах поглощается нейтрофилами. Результатом протеолиза СРБ в фагосомах нейтрофилов становится выделение иммуноактивных низкомолекулярных пептидов, которые модулируют различные функции нейтрофилов и макрофагов. Влияние СРБ на моноциты носит более выраженный провоспалительный характер, чем влияние на нейтрофилы. Учитывая важную роль моноцитов в регуляции иммунных и неспецифических защитных реакций, опосредованное моноцитами влияние СРБ может не ограничиваться областью воспалительного очага, а принимать системный характер. Участие СРБ в аутоиммунных процессах реализуется через связывание с лигандами (фибронектином, липопротеидами низкой плотности и др.), где данный белок выполняет функцию своеобразного «пластыря», обеспечивая либо экранирование аутоантигенных детерминант, либо их разрушение, сопровождающееся утратой антигенных свойств [11].

При воспалении концентрация С-реактивного белка увеличивается в сыворотке и крови в десятки и сотни раз. Благодаря прямой связи между изменением уровня СРБ, тяжестью и динамикой клинических проявлений, данный белок является наиболее чувствительным и специфичным клиничко-лабораторным маркером воспаления и некроза, получившим широкое распространение при мониторинге и контроле эффективности лечения бактериальных и вирусных инфекций, хронических воспалительных, онко-

логических заболеваний, хирургических осложнений. Различные патологические состояния по-разному повышают уровни С-реактивного белка. Так, вирусные инфекции, метастазирование опухолей, вялотекущие хронические заболевания приводят к повышению концентрации СРБ до 10–30 мг/л. При бактериальных инфекциях, обострении хронических воспалительных заболеваний, повреждении тканей (хирургические операции, острый инфаркт миокарда) его количество возрастает до 40–100 мг/л. Тяжелые генерализованные инфекции (ожоги, сепсис) повышают СРБ почти запредельно — до 300 мг/л и более [3, 18].

В акушерстве изучение биохимических посредников, таких как СРБ, являющихся индикаторами воспаления, находит применение для прогноза изменений в шейке матки в продормальной фазе преждевременных родов [34]. Так, E. Tarim et al. (2005) установили увеличение содержания С-реактивного белка в околоплодных водах у женщин с клинической картиной угрозы прерывания беременности [52]. По данным M. Gojnic et al. (2005), высокий уровень СРБ в крови матери может быть следствием асептического воспаления хориона или амниотической жидкости [36]. Определение этого маркера в ряде случаев позволяет выявить наличие хронического очага инфекции и оказывается полезным для уточнения этиологии осложненного течения беременности. В частности, при исследовании концентраций СРБ у 150 беременных с анемией N. R. Van den Broek, E. A. Letsky (2000) установили, что хроническая инфекция является фактором, способствующим развитию данного осложнения при отсутствии железодефицитного состояния [55].

Значительное увеличение концентрации СРБ достаточно четко указывает как на диагноз, так и на эффективность проводимой терапии. Однако клиническая значимость определения содержания СРБ выходит далеко за пределы общепринятых стандартов. Представления о диагностических возможностях С-реактивного белка существенно расширились после первых публикаций в 1994–1997 гг. об открытии и использовании нового высокочувствительного метода измерения его концентраций (hs — high sensitive, hsCRP). Метод позволяет определять базовую концентрацию белка — уровень, стабильно вы-

являемый у практически здоровых лиц и у пациентов при отсутствии острого воспалительного процесса или вне обострения заболевания. Интервал физиологических («нормальных») значений СРБ в сыворотке крови сформирован при обследовании здоровых добровольцев, доноров и членов разных популяций [15]. Работы, проведенные в разных областях клинической медицины, показали, что уровень С-реактивного белка у здоровых людей не превышает 5 мг/л, но в большинстве случаев регистрируется более низкая экспрессия hsCRP, подверженная возрастной динамике: у детей 8–12 лет от 0,17–0,20 мг/л, у взрослых 18–60 лет до 0,47–1,34 мг/л; половых различий при этом не наблюдается [11, 15].

Небольшие концентрации СРБ, постоянно присутствующие в кровотоке, в настоящее время не рассматриваются в качестве специфического маркера воспалительного процесса, поскольку цитокинам, помимо индукции синтеза белков острой фазы, свойственны функции, не связанные с острым воспалением. Установлено, что такие процессы, как активация комплемента, моноцитов, стимулирование экспрессии молекул адгезии (sICAM-1, sVCAM-1, E-селектина) на поверхности эндотелия, связывание и модификация липопротеинов низкой плотности и др., происходящие с участием СРБ, являются признаками начальной стадии повреждения стенки сосудов [4, 7].

Таким образом, исследования последнего десятилетия свидетельствуют об участии С-реактивного белка, который отражает внутрисосудистое воспаление, в патогенезе патологических состояний, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией. В то же время к настоящему моменту накоплен материал о роли дисфункции сосудистого эндотелия в патогенезе ряда акушерских осложнений [1, 10, 51]. Некоторые авторы предполагают, что главным патологическим компонентом основных видов акушерской патологии (гестозов, СЗРП) является именно системное воспаление, ассоциированное с эндотелиальной дисфункцией [24]. Системное воспаление обсуждается в настоящее время и как фактор, связывающий традиционные факторы риска дисфункции сосудистого эндотелия (индекс массы тела, курение и др.) с развитием гестационных осложнений [41].

В. Н. Титов (2008) считает, что повышение

содержания белка в плазме крови в пределах 10 мг/л инициируется накоплением в межклеточной среде эндогенных молекул — инициаторов воспаления большой молекулярной массы (флогенов), к которым относятся все белковые молекулы, не имеющие функционального значения («субклинический интервал» увеличения концентрации СРБ). Инфицирование же организма экзогенными бактериальными патогенами большой молекулярной массы является причиной повышения концентрации СРБ более 10 мг/л, возрастания ее в острой фазе воспаления в сотни раз и рассматривается как «клинический интервал» [16].

Многочисленными исследованиями ряда авторов установлено, что измерения базовых уровней С-реактивного белка имеют прогностическое значение: повышенная концентрация hsCRP ассоциирована с развитием в дальнейшем атеросклероза, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, а также диабета у видимо здоровых людей. Уровень С-реактивного белка, наряду с традиционными факторами риска, в настоящее время рассматривается как независимый предиктор заболеваний и их осложнений [4, 18, 21, 31, 35, 44].

Однако повышение базового уровня С-реактивного белка в плазме крови не всегда связано с проявлениями того или иного заболевания и может сопровождать состояния, которые по своей природе не являются патологическими, в частности, физиологическую беременность на всем ее протяжении [29, 56].

В 1983 году было сообщено о новой форме С-реактивного белка, состоящей из свободных мономеров (м-СРБ), функциональная активность которой была изучена недавно [3]. Установлено, что для активации эндотелиальных клеток необходим переход пентамерного СРБ в его мономерные формы. В культуре эндотелиальных клеток артерий человека именно м-СРБ вызывает быстрое повышение концентраций компонентов воспалительного ответа [39]. Патогенетическая взаимосвязь между начальными процессами внутрисосудистого воспаления и эндотелиальной дисфункцией изучена недостаточно, однако роль С-реактивного белка как «молекулы-дворника» при повреждении сосудистой стенки и маркера указанных изменений очевидна [11]. Имеются данные о повышении уров-

ня СРБ у больных с пограничными параметрами вазомоторной функции эндотелия, свидетельствующие об участии данного белка в патогенезе поражения органов-мишеней на ранней стадии артериальной гипертензии и косвенные подтверждения сопряженности процессов внутрисосудистого воспаления и эндотелий-зависимой вазодилатации [5, 25].

Активное участие в регуляции сосудистого тонуса принимает вегетативная нервная система (ВНС), которая способствует увеличению диаметра сосуда посредством освобождения ацетилхолина, активирующего гладкомышечные и эндотелиальные мускариновые рецепторы. В некоторых публикациях имеются сообщения об участии ВНС в запуске синтеза СРБ [42]. По мнению J. E. Blalock (2005), иммунная и нервная системы, являющиеся гуморальными, используют единый «химический язык» активации рецепторов для инициации воспаления, поскольку продуцируют «общий набор» нейротрансмиттеров и цитокинов [23]. Сопряженность деятельности ВНС и процессов неспецифического воспаления продемонстрировали на большом клиническом материале Н. Kon et al. (2006): при обследовании 823 случайно выбранных пациентов методом оценки вариабельности ритма сердца они выявили значительно больший уровень hsCRP в группе лиц с самым низким коэффициентом вариации интервала R-R. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наличие внутрисосудистого воспаления среди основной популяции людей напрямую ассоциировано со снижением активности парасимпатической ВНС. По мнению авторов, подобные условия создают предпосылки для взаимодействия воспалительных клеток, вызывая развитие атеросклероза и кардиоваскулярной патологии [40].

У беременных, даже при физиологическом течении гестации, вариабельность сердечного ритма достоверно ниже, чем вне беременности, что рассматривается как «стресс-реакция» вследствие повышения активности симпатической ВНС [17]. Исследование роли физиологического стресса, сопровождающего беременность на всем ее протяжении, и стресса, обусловленного отсутствием социальной поддержки будущих матерей, провели М. Е. Coussons-Read et al. (2007). Авторы указали на индуцированную данными факторами активацию секреции провоспалительных

цитокинов и повышение экспрессии hsCRP и пришли к заключению, что пренатальный стресс оказывает негативное влияние на иммунную систему матери и усиливает процессы неспецифического воспаления, тем самым увеличивая риск осложнений беременности [29].

При беременности увеличение содержания СРБ в субклиническом интервале является тестом нежелательных последствий. Так, согласно наблюдениям С. Qiu et al. (2004), повышение уровня hsCRP в крови беременных более 5,3 мг/л является фактором риска инсулинрезистентного гестационного диабета, не ассоциированного с индексом массы тела [48].

Многоцентровые исследования, проведенные при беременности в рамках проекта Viva с 1999 по 2002 гг. в Массачусетсе (США) по изучению взаимосвязи между уровнем hsCRP и преждевременными родами, показали, что повышенный (в сравнении с контролем) уровень белка в ранние сроки беременности может служить прогностическим признаком ее досрочного прерывания. При этом наиболее высокие показатели выявлялись у женщин с минимальным сроком гестации (5–19 недель), а экспрессия белка, превышающая 8 мг/л, достоверно указывала на высокий риск невынашивания беременности [47]. Несколько иные результаты были получены D. H. Watts et al. (1991), установившие прямую связь между физиологическим повышением уровня СРБ при беременности и сроком гестации (в среднем 7–9 мг/л к 22 нед.). Так, в 95% случаев неосложненной беременности концентрация белка была относительно высокой, но не превышала 15 мг/л [56].

В современной научной литературе имеются единичные работы, рассматривающие hsCRP в качестве предиктора и маркера степени тяжести гестоза второй половины беременности. Так, D. Paternoster et al. (2006) отметили повышение уровня С-реактивного белка у беременных с артериальной гипертензией, а использование многофакторного анализа показало, что при преэклампсии и эклампсии уровень артериального давления позитивно достоверно коррелирует с содержанием СРБ [45, 54].

В ходе проспективного исследования, проведенного для уточнения роли воспаления в патогенезе гестоза, M. Wolf et al. (2001) установили, что повышение экспрессии hsCRP в I триместре

беременности (4,6 мг/л по сравнению с 2,3 мг/л в контроле) в дальнейшем сопряжено с риском преэклампсии у женщин с избыточной массой тела [57]. Вместе с тем данные литературы свидетельствуют, что уровень С-реактивного белка всегда ассоциирован со степенью ожирения (достоверное и независимое взаимоотношение между СРБ и ожирением установлено в процессе диетотерапии и снижения массы тела) [16].

Таким образом, анализ отечественной и зарубежной литературы показывает, что на сегодняшний день не существует четкого представления о роли системного воспалительного ответа при физиологической и осложненной беременности. Но объективным, хотя и косвенным предиктором этих процессов является повышение экспрессии неспецифического, высокочувствительного С-реактивного белка (hsCRP) в субклиническом интервале.

В настоящее время метод определения hsCRP получил широкое распространение в клинической медицине (но не в акушерстве) в силу ряда причин: метод прост и применим даже в амбулаторных условиях; результаты определения hsCRP в свежей, хранившейся и даже замороженной плазме (сыворотке) практически не различаются. В отличие от короткоживущих цитокинов, для которых характерны суточные колебания концентраций, уровни СРБ стабильны из-за длительного периода полувыведения данного белка из организма. Кроме того, метод hsCRP стандартизован [3]. Помимо высокой информативности, определение hsCRP может использоваться для проведения скринингового обследования. Существующие экспресс-тесты для измерения уровня hsCRP позволяют получить результат через 3 минуты и создают возможность его широкого определения в лечебно-профилактических учреждениях различного уровня [30].

Нами проводилось обследование 116 пациенток в возрасте от 18 до 40 лет, в том числе 86 беременных женщин (средний возраст $24,6 \pm 0,7$ года) и 30 женщин вне беременности (средний возраст $22,9 \pm 0,6$ года) [6]. Результаты исследования показали, что уже в ранние сроки беременности (7–12 недель) отмечалась достоверная разница повышения уровня hsCRP в сыворотке крови ($4,45 \pm 0,20$ мг/л) по сравнению с его уровнем у небеременных женщин ($1,24 \pm 0,14$ мг/л, $p < 0,01$). Исследование в динамике уровня hsCRP

при беременности показало, что возникающее в процессе инвазии трофобласта повреждение сосудистой стенки эндо- и миометрия приводит к формированию системного воспалительного ответа даже при физиологическом течении беременности, что находит отражение в виде прогрессирующего увеличения экспрессии hsCRP в период плацентации при сроке 16–18 недель ($5,73 \pm 0,69$ мг/л). После завершения анатомического формирования плаценты и становления маточно-плацентарного кровообращения при неосложненном течении беременности интенсивность реакций системного воспалительного ответа сохраняется без существенного прогрессирования до 35–36 недель ($6,19 \pm 0,43$ мг/л). При доношенной физиологической беременности происходит увеличение экспрессии hsCRP ($9,23 \pm 0,64$ мг/л, $p < 0,01$), что, вероятно, обусловлено процессами старения плаценты.

У женщин с гестозом второй половины беременности ($n=21$) уже на доклинической стадии

патологического процесса, в конце II триместра при сроке 26–28 недель зарегистрирована достоверно более высокая экспрессия hsCRP — $9,22 \pm 0,57$ мг/л ($p < 0,01$). На стадии клинической манифестации гестоза концентрация белка составила $11,58 \pm 0,72$ мг/л ($p < 0,01$), что свидетельствует об участии системного воспаления в патогенезе данного осложнения.

В заключение отметим, что иммунные нарушения при физиологической беременности играют важную роль на этапе формирования плацентации, способствуя росту трофобласта и стимуляции эмбриогенеза. Дальнейшее изучение динамической экспрессии маркеров системного воспалительного ответа, в частности hsCRP, при беременности может служить предиктором для формирования групп риска гестационных осложнений и создания программы акушерского мониторинга для проведения превентивной коррекции.

Список литературы

1. Белокриницкая Т. Е., Витковский Ю. А., Казанцева Е. В. // *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии*. — 2006. — № 1. — С. 56–60.
2. Близнюк Е. А. Иммунологические аспекты в прогнозировании, диагностике и профилактике тяжелых форм гестозов на фоне хронического пиелонефрита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Барнаул, 1998. — 25 с.
3. Вельков В. В. С-реактивный белок — «золотой маркер», многозначительный и незаменимый. Новое в клинической лабораторной диагностике атерогенеза: С-реактивный белок, холестерин, апополипротеины. — Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2005. — 47 с.
4. Верткин А. Л., Прохорович Е. А., Кульниченко Т. В. // *Фарматека*. — 2006. — № 20 (135). — С. 63–69.
5. Дмитриев В. А., Ощепкова Е. В., Титов В. Н. и др. // *Кардиологический вестн.* — 2007. — Т. 2, № 2. — С. 55–61.
6. Игитова М. Б., Сердюк Г. В., Момот А. П., Воробьева Е. Н. Клинико-диагностическое значение С-реактивного белка как маркера системного воспалительного ответа при беременности (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика, 2009. — № 6. — С. 3–8.
7. Киншт Д. Н., Верецагин Е. И., Пасман Н. М., Верецагин И. П. // *Вестн. интенсивной терапии*. — 1999. — № 2. — С. 23–28.
8. Королева О. С., Затеищikov Д. А. // *Фарматека*. — 2007. — № 8/9 (143). — С. 30–36.
9. Кузник Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. — Чита, 2010. — 827 с.
10. Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Акиньшина С. В. Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве. — М.: МИА, 2006. — 448 с.
11. Медвинский И. Д., Зислин Б. Д., Юрченко Л. Н. // *Анестезиология и реаниматология*. — 2000. — № 3. — С. 48–52.
12. Орлов А. В. // *Мать и дитя: материалы VII Рос. форума*. — М., 2005. — С. 189.
13. Полевщиков А. В., Назаров П. Г. // *Иммунология*. — 1998. — № 4. — С. 4–11.
14. Радзинский В. Е., Запертова Е. Ю. // *Журн. акушерства и женских болезней*. — 2004. — Т. 53, вып. 4. — С. 59–61.
15. Серов В. Н., Пасман Н. М., Бородин Ю. И., Бурухина А. Н. Гестоз — болезнь адаптации. — Новосибирск: РИПЭЛ плюс, — 2001. — 208 с.

16. Сотникова Н. Ю., Кудряшова А. В., Посисеева Л. В., Веденеева М. В. // Цитокины и воспаление. — 2006. — Т. 5, № 3. — С. 10–15.
17. Титов В. Н., Осипов С. Г. Атеросклероз. Роль эндогенного воспаления, белков острой фазы и жирных кислот. — М., — 2003. — 279 с.
18. Титов В. Н. // Клинич. лабораторн. диагностика. — 2008. — № 2. — С. 3–14.
19. Шевченко О. П. // Лабораторн. медицина. — 2003. — № 6. — С. 3–6.
20. Шифман Е. М. Преэклампсия, эклампсия, HELLP-синдром. — Петрозаводск: ИнтелТек, 2002. — 432 с.
21. Azadbakht L., Kimiagar M., Y. Mehrabi Y. et al. // *Diabetes Care*. — 2007. — N 30. — P. 967–973.
22. Belo L., Santos-Silva A., Rocha S. et al. // *Eur. J. Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. — 2005. — Vol. 123. — P. 46–51.
23. Blalock J. E. // *Journal of Internal Medicine*. — 2005. — Vol. 257, N 2. — P. 126–138.
24. Bretelle F., Sabatier F., Shojai R. et al. // *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. — 2004. — Vol. 32, N 6. — P. 482–489.
25. Campia U., Matuskey L. A., Panza J. A. // *Circulation*. — 2006. — Vol. 113, N 6. — P. 867–875.
26. Chae C. U., Lee R. T., Rifai N. et al. // *Hypertension*. — 2001. — Vol. 38. — P. 399–403.
27. Chan D. C., Watts G. F., Barrett P. H. // *Clin. Chem*. — 2002. — Vol. 48, N 6 (Pt. 1). — P. 877–883.
28. Coussons-Read M. E., Okun M. L., Nettles C. D. // *Brain, Behavior, and Immunity*. — 2007. — Vol. 21, Issue 3. — P. 343–350.
29. Duncan B. B., Schmidt M. I., Pankow J. S. et al. // *Diabetes*. — 2003. — Vol. 52. — P. 1799–1805.
30. Egawa H., Fujiwara H., Hirano T. et al. // *Human Reproduction*. — 2002. — Vol. 17, N 2. — P. 473–480.
31. Engstrom G., Janzon L., Berglund G. et al. // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. — 2002. — Vol. 22. — P. 2054–2058.
32. Facchinetti F., Paganelli S., Verturini P. et al. // *G. Ital. Obstet. e Ginecol.* — 2006. — Vol. 28, N 1–2. — P. 11–15.
33. Folsom A. R., Grundy S. M., Ballantyne C. M. // *NHLBI Workshop Report*, July 10–11, 2006.
34. Gojnic M., Fazlagic A., Pervulov M. et al. // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* — 2005. — Vol. 32, N 2. — P. 114–116.
35. Haider D.G., Leuchten N., Schaller G. et al. // *Clinical and experimental immunology*. — 2006. — Vol. 146, N 3. — P. 533–539.
36. Kallen C. B., Arici A. // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* — 2003. — Vol. 15, N 3. — P. 225–231.
37. Khreiss T., Jozsef L., Potempa L.A., Filep J.G. // *Circulation*. — 2004. — Vol. 109. — P. 2016–2022.
38. Kon H., Nagano M., Tanaka F. et al. // *International Heart Journal*. — 2006. — Vol. 47, N 6. — P. 867–876.
39. Lain K.Y., Luppi P., McGonigal S. et al. // *Obstetrics & Gynecology*. — 2006. — Vol. 107. — P. 588–594.
40. Macintyre S.S., Schultz D., Kushner I. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 1982. — Vol. 389. — P. 76–87.
41. McVeigh B.L., Dillingham B.L., Lampe J.W., Duncan A.M. // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2006. — Vol. 83, N 2. — P. 244–251.
42. Pai J. K., Pischon T., Ma J. et al. // *The New England Journal of Medicine*. — 2004. — Vol. 351, N 25. — P. 2599–2610.
43. Paternoster D. M., Fantinato S., Stella A. et al. // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. — 2006. — Vol. 12, N 3. — P. 330–337.
44. Peason T.A., Mensah G.A., Alexander R.W. et al. // *Circulation*. — 2003. — Vol. 107. — P. 499–511.
45. Pitiphat W., Gillman M.W., Joshipura K.J. et al. // *American J. of Epidemiology*. — 2005. — Vol. 162, N 11. — P. 1108–1113.
46. Qiu C., Sorensen T.K., Luthy D.A., Williams M.A. // *Paediatric and Perinatal Epidemiology*. — 2004. — Vol. 18 (Issue 5). — P. 377–384.
47. Sesso H.D., Buring J.E., Blake G.J. et al. // *JAMA*. — 2003. — Vol. 290. — P. 2945–2951.
48. Suzuki Y., Yamamoto T., Watanabe Y. // *Curr. Women's Health Rev.* — 2005. — N 1. — P. 61–65.
49. Tarim E., Bagis T., Kilicdag E.B. et al. // *Journal of perinatal medicine*. — 2005. — Vol. 33, N 6. — P. 524–529.
50. Tayade C., Black G.P., Fang Y., Croy B.A. // *J. Immunol.* — 2006. — Vol. 176, N 1. — P. 148–156.
51. Ustun Y., Engin-Ustun Y., Kamaci M. // *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. — 2005. — Vol. 121, N 2. — P. 154–158.
52. Van den Broek N.R., Letsky E.A. // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2000. — Vol. 72, Suppl. 1. — P. 247S–256S.
53. Watts D. H., Krohn M. A., Wener M. H., Eschenbach D.A. // *Obstetrics & Gynecology*. — 1991. — Vol. 77. — P. 176–180.
54. Wolf M., Kettyle E., Sandler L. et al. // *Obstetrics & Gynecology*. — 2001. — Vol. 98. — P. 757–762.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Использование глобальных методов оценки состояния гемостаза при сепсисе

Н. П. Сошитова¹, М. А. Пантелеев^{1,2,3,4}, Ф. И. Атауллаханов^{1,2,3,4,5}

¹ – ООО «ГемаКор», г. Москва

² – ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России», г. Москва

³ – Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии, г. Москва

⁴ – ФГБУ ВПО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», г. Москва

⁵ – ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, г. Москва

Резюме

Неотъемлемыми спутниками воспалительной реакции при сепсисе являются активация системы свертывания крови, подавление антикоагулянтных механизмов и системы фибринолиза. Возникающее в результате диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС) ведет к появлению тромбов в микрососудистом русле и, как следствие, к нарушению работы отдельных органов и систем, развитию полиорганной недостаточности, что значительно отягощает состояние больных. Важная роль, которую играют нарушения в системе гемостаза при сепсисе, делает необходимым мониторинг за показателями этой системы в ходе лечения. Однако современные общепринятые интегральные тесты времени свертывания (активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ)) малочувствительны к активации системы свертывания крови при сепсисе. Поэтому поиск новых диагностических методов для исследования состояния гемостаза при сепсисе является чрезвычайно актуальной задачей.

В этом обзоре рассказывается о новых гло-

бальных методах оценки состояния гемостаза: тромбоэластографии (ТЭГ), тесте генерации тромбина (ТГТ), тромбодинамике, и представлены данные об их использовании для оценки состояния системы свертывания крови при сепсисе.

Ключевые слова

Диссеминированное внутрисосудистое свертывание, тромбоз, гиперкоагуляция, сепсис, тромбоэластография, тест генерации тромбина, тромбодинамика.

Введение

Нарушения гемостаза при сепсисе характеризуются активацией свертывания, снижением активности системы естественных антикоагулянтов и подавлением системы фибринолиза [1, 2]. Активация свертывания тесно связана с защитной функцией организма и, по-видимому, необходима для локализации очага инфекции или инфекционных агентов путем окружения их фибриновыми микросгустками [3, 4]. Однако чрезмерная активация в совокупности с переносными выше фактами приводит к раз-

витию синдрома ДВС [5], являющегося частым осложнением сепсиса [6].

Клинически значимые нарушения свертывания встречаются у 50–70% больных с сепсисом, примерно у 35% больных развивается ДВС-синдром [7–9]. Эти нарушения проявляются тромбозами либо отложениями фибрина в микроциркуляторном русле, которые являются причиной возникновения полиорганной недостаточности [10, 11], значительно отягчающей состояние больных [12]. ДВС-синдром проявляется одновременно микротромбозами и кровотечениями [13].

Активация свертывания при сепсисе происходит по внешнему пути с участием тканевого фактора (TF). В ходе воспаления под воздействием бактериальных токсинов, провоспалительных цитокинов и медиаторов воспаления происходит экспрессия TF на поверхности эндотелиальных клеток и мононуклеарных лейкоцитов. Кроме того, под действием провоспалительных цитокинов — фактора некроза опухоли- α и интерлейкина 6 — эндотелиальные клетки экспрессируют и выделяют растворимый TF [14]. Одновременно в крови увеличивается число прокоагулянтных фосфолипидных микровезикул, несущих TF [15]. Происходит ухудшение физиологических антикоагулянтных механизмов и эндогенного фибринолиза [16, 17].

Такое смещение равновесия в гемостатическом балансе приводит вначале к отложению фибрина в микрососудистом русле и развитию полиорганной недостаточности, а затем, по мере потребления факторов свертывания и тромбоцитов, возможно возникновение геморрагического синдрома [5].

В свою очередь белки системы свертывания оказывают воздействие на процесс воспаления. Они вызывают усиление воспалительного ответа, в частности, за счет связывания с PAR-рецепторами (protease-activated receptors; рецепторы, активируемые протеиназами) на клетках эндотелия, моноцитов и др., и, как следствие, усиления этими клетками экспрессии провоспалительных цитокинов [13, 18]. С другой стороны, антикоагулянты (антитромбин III (АТIII), протеин С (ПС)) обладают выраженными противовоспалительными свойствами, что позволяет применять их в качестве эффективного средства коррекции нарушений свертывания при тяже-

лой инфекции и сепсисе [19, 20].

Таким образом, тесная взаимосвязь между системами воспаления и гемостаза [21] делает необходимым мониторинг показателей системы гемостаза в ходе лечения больных сепсисом, а воздействия на отдельные ее звенья позволяют улучшить течение и прогноз при сепсисе [22, 23].

Современные коагулологические тесты (такие как АЧТВ, ПВ) малочувствительны к активации свертывания при сепсисе [24]. Они плохо отражают реальное состояние гемостаза *in vivo*. Большинство клоттинговых тестов направлены на выявление прежде всего гипокоагуляции и проводятся в условиях максимальной активации свертывания, поэтому могут не регистрировать гиперкоагуляцию в системе гемостаза [25]. Из-за потребления факторов свертывания крови при сепсисе времена свертывания в этих тестах, несмотря на активацию свертывания, могут быть удлинены, а не укорочены [26, 27].

Основными маркерами гиперкоагуляции при сепсисе являются значительное увеличение содержания в крови фрагментов протромбина F1+2, Д-димеров, тромбин-антитромбинового комплекса (ТАТ) и одновременное уменьшение уровня АТIII, ПС и протеина S [28, 29]. Однако эти маркеры достаточно поздние и выявляют лишь уже состоявшееся тромбообразование и микротромбозы при сепсисе и септическом шоке, но не выявляют активацию свертывания и прокоагулянтное состояние на более ранних стадиях воспалительного ответа.

В последнее время были разработаны новые глобальные тесты оценки состояния гемостаза, реализующие принципиально иные подходы к исследованию системы свертывания крови в отличие от общепринятых тестов времени свертывания: тромбоэластография, тест генерации тромбина, тромбодинамика.

В этом обзоре рассказывается о новых достижениях в диагностике состояния системы свертывания крови при сепсисе, полученных при использовании этих методов.

Глобальные тесты гемостаза

Тромбоэластография

Метод ТЭГ основан на измерении физической плотности сгустка. В нем регистрируется изменение вязкоупругих свойств образца крови

в процессе свертывания и как результат графически отображается процесс полимеризации фибрина и последующий лизис сгустка [30, 31]. Исследуемый образец помещается в кювету в форме небольшой чашечки при 37°C, в которую погружается стержень, и в зависимости от коммерческой версии метода (TEG® или ROTEM®) либо чашечка, либо стержень начинают вращательные колебания на 4–5 градусов. Когда в кювете формируется сгусток, колебания с одного элемента передаются на другой и регистрируются.

Получающаяся кривая зависимости амплитуды колебаний от времени характеризует процесс свертывания крови. Она почти симметрична относительно оси абсцисс, так как есть две амплитуды — для колебаний в обе стороны, но тромбоэластограмма традиционно содержит обе половинки кривой (рис. 1). На ней выделяют различные параметры, характеризующие скорость формирования сгустка и его финальные характеристики.

ТЭГ позволяет измерять свертывание в цельной крови, что ближе к ситуации *in vivo*, и не тратить время на подготовку плазмы, измерять реальную прочность сгустка, а не условные оптические характеристики, которые могут ее отражать недостоверно. Использование разнообразных активаторов свертывания и фибринолиза позволяет изучать и диагностировать нарушения разных элементов системы свертывания.

В последнее время предпринимались попытки использовать данный метод для диагностики гиперкоагуляционных состояний и тромбофилий, но результаты различных исследований пока противоречивы и неубедительны [9, 27, 31]. Среди недостатков ТЭГ можно отметить затруднительность массовых параллельных анализов, плохую корреляцию с результатами стандартных клоттинговых тестов, высокий коэффициент вариации и ограничения на стабильность образцов цельной крови.

Тест генерации тромбина

Тромбин — главный фермент системы свертывания крови. Именно он катализирует основную реакцию превращения фибриногена

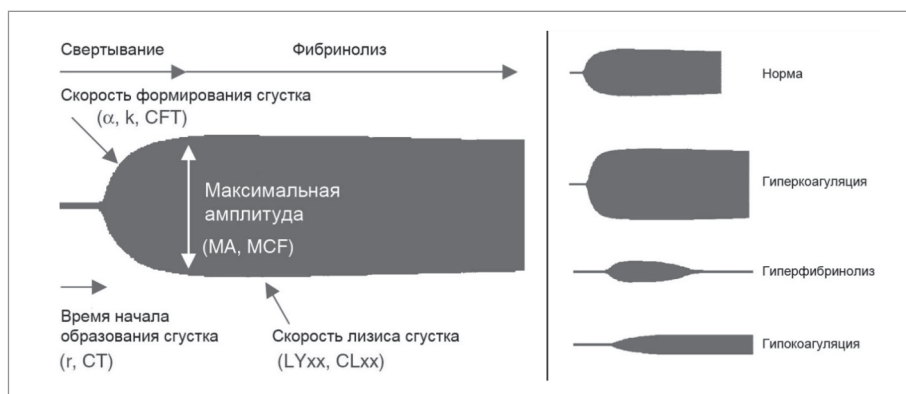


Рис. 1. Тромбоэластография. Слева проиллюстрированы основные численные параметры тромбоэластограммы, справа — примеры внешнего вида в случае различных отклонений в системе свертывания. Рисунок воспроизведен из [32].

в фибрин и осуществляет основную регуляцию системы, участвуя в положительных и отрицательных обратных связях. Исследование кинетики тромбина может дать дополнительную информацию, недоступную из простого наблюдения за кинетикой свертывания.

Х. К. Хемкером и соавт. [33] была предложена экспериментальная система для регистрации производства тромбина, производимого в процессе свертывания. Эксперимент проводится в гомогенных условиях. Активность тромбина определяется по флуоресценции продукта расщепления тромбином специфического флуорогенного субстрата. По результатам эксперимента строится кривая зависимости генерации тромбина от времени — тромбограмма (рис. 2). Ее основные характеристики: время задержки генерации тромбина (лаг-тайм), время дости-

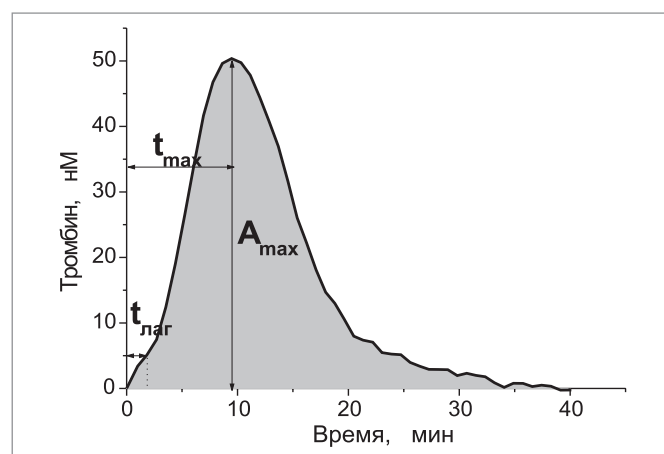


Рис. 2. Тромбограмма.

Основные параметры: t_{max} — время достижения максимума, t_{lag} — время задержки генерации тромбина, A_{max} — максимальная концентрация тромбина, ЭТП — площадь кривой (закрашена серым).

жения максимума, максимальная концентрация тромбина и общее количество тромбина, нарабатанное за время эксперимента, — эндогенный тромбиновый потенциал (ЭТП) — площадь под кривой [34].

Результаты теста генерации тромбина зависят от условий эксперимента: метода активации, концентрации активатора, использования бедной или богатой плазмы, добавления вспомогательных веществ. Меняя их, можно выявлять различные нарушения свертывания. Стандартная активация небольшим количеством ТФ в бедной тромбоцитами плазме используется для выявления нарушений плазменного свертывания [35]. Она удобна для массового анализа. Генерация тромбина в богатой тромбоцитами плазме может дополнительно выявлять нарушения тромбоцитарного свертывания, успешно обнаруживая склонность к кровотечению при тромбастении Гланцманна, синдроме Бернара-Сулье, приеме антитромбоцитарных препаратов [36]. При добавлении тромбомодулина этот тест начинает выявлять даже некоторые гиперкоагуляционные нарушения: мутацию Лейден-фактора свертывания V, последствия приема оральных контрацептивов и другие [37].

Тромбодинамика

Тромбодинамика — метод исследования процесса формирования фибринового сгустка в пространственно-распределенной системе — была разработана в лаборатории физической биохимии системы крови ФГБУ ГНЦ Минздрава под руководством профессора Ф. И. Атауллаханова [38].

В основе этого метода лежит принцип регистрации светорассеяния от растущего фибринового сгустка в тонком неперемешиваемом слое плазмы, содержащей ингибитор контактной активации, методом темного поля. Процесс свертывания в данном тесте запускается иммобилизованным на поверхности ТФ. Этот метод более точно, по сравнению со стандартными методами, моделирует условия протекания процесса свертывания *in vivo*, так как принимает во внимание как биохимические реакции каскада свертывания, так и процессы диффузии [39]. Тем не менее в этом методе не учитывается поток крови, а также вклад тромбоцитарного звена свертывания крови в процесс формирования сгустка.

Данный метод использовался в фундаментальных исследованиях и позволил получить ряд важных результатов по регуляции процесса свертывания [40, 41]. Кроме того, он использовался при изучении нарушений свертывания при гемофилиях А и В [39, 42, 43] и других дефицитах факторов свертывания [44, 45]. Он оказался чувствительным к прокоагулянтным изменениям в плазме, вызванным добавлением тромбоцитарных микровезикул [46], рекомбинантного активированного FVII [47] и аптамера — антагониста ингибитора пути тканевого фактора [48]. В работе [49] впервые была предпринята попытка оценить диагностический потенциал тромбодинамики, в частности для выявления гиперкоагуляционных нарушений гемостаза при сепсисе. Для постановки теста тромбодинамики использовался прибор «Регистратор тромбодинамики Т2» (ООО «Гемакор», Россия, Москва).

На рисунке 3А приведены примеры фотографий растущего в пространстве сгустка, полученные при выполнении тромбодинамики с образцами плазмы здорового донора и больных с гипо- и гиперкоагуляцией. После приведения плазмы в контакт с поверхностью с нанесенным ТФ с высокой плотностью фибриновый сгусток через небольшой промежуток времени начинает формироваться на активаторе, затем он постепенно распространяется вглубь плазмы, одновременно уплотняясь. В норме сгусток растет только от активатора, однако при гиперкоагуляции может наблюдаться феномен активатор-независимого свертывания — появление и рост фибриновых сгустков вдали от активатора в объеме плазмы. Такие сгустки обозначаются как спонтанные сгустки, а сам феномен — образование спонтанных сгустков (область их появления выделена на рисунке белым прямоугольником).

Основными параметрами тромбодинамики являются: лаг-тайм (задержка роста сгустка у активатора), начальная скорость роста сгустка (вблизи активатора), стационарная скорость роста сгустка и время образования спонтанных сгустков (время достижения 5% от максимальной интенсивности светорассеяния в области образования спонтанных сгустков) (рис. 3В). В результате обследования здоровых доноров в работе [49] были определены следующие диапазоны нормальных значений параметров тромбодинамики: время задержки роста сгустка — от

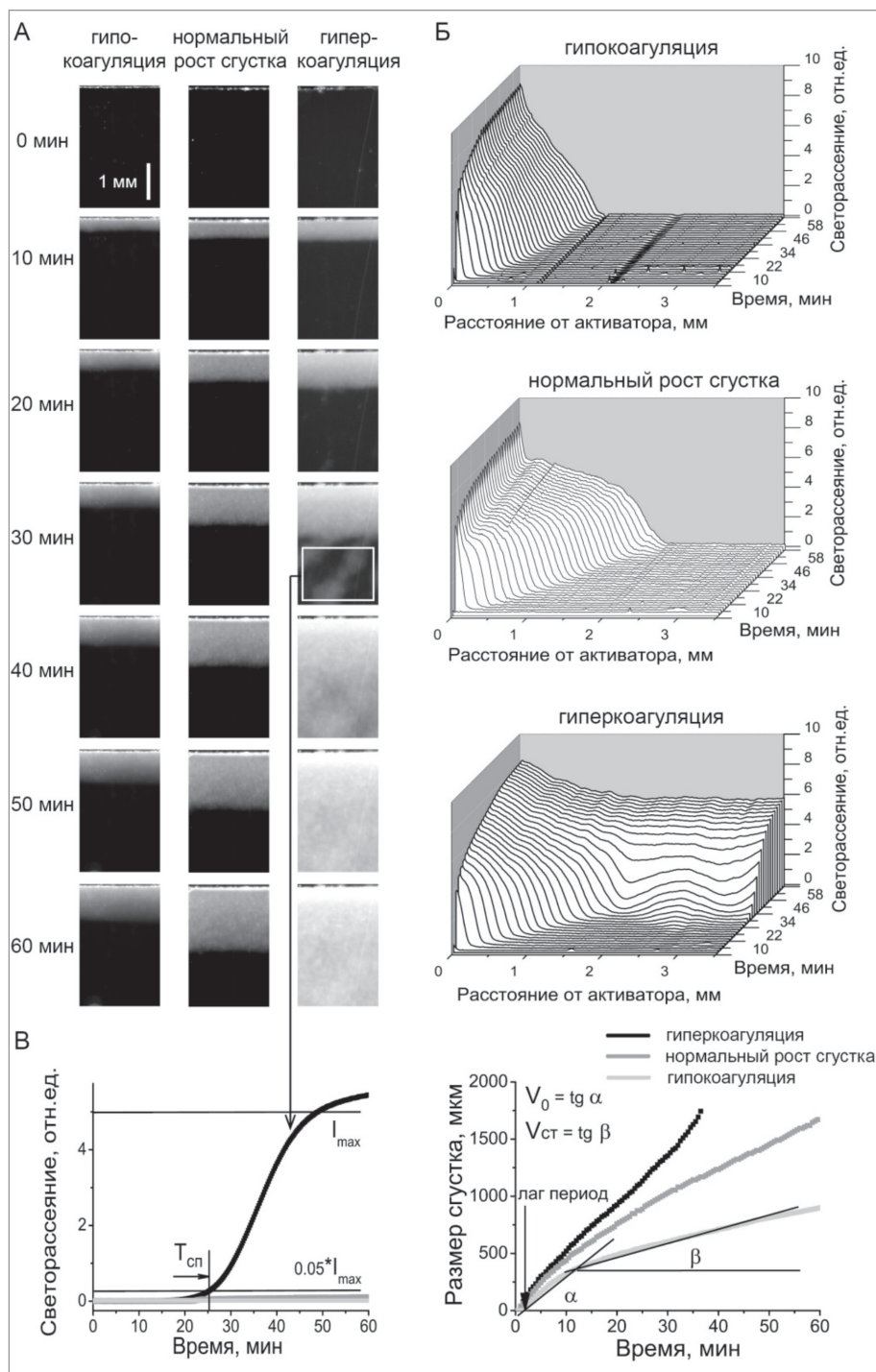


Рис. 3. Тромбодинамика: чувствительность к различным состояниям системы свертывания.

(А) Фотографии растущего сгустка в образцах плазмы здорового донора и больных с гипо- и гиперкоагуляцией. Активатор с нанесенным тканевым фактором виден сверху каждой фотографии как горизонтальная черная полоска. Белый прямоугольник обозначает область образования спонтанных сгустков.

(Б) Профили роста сгустка для экспериментов на панели (А).

(В) Зависимость светорассеяния в области роста спонтанных сгустков от времени (слева) и зависимость размера сгустка от времени (справа) для экспериментов на панели (А). Основные параметры тромбодинамики: V_0 — начальная скорость роста сгустка, $V_{ст}$ — стационарная скорость роста сгустка, $T_{сп}$ — время возникновения спонтанных сгустков. Воспроизведено из [49].

0,4 до 0,8 мин, начальная скорость роста сгустка — от 41 до 51 мкм/мин, стационарная скорость роста сгустка — от 22 до 28 мкм/мин. В норме на протяжении всего времени исследования (60 мин) спонтанные сгустки не должны появляться. Состояния гипо- и гиперкоагуляции характеризуются пониженными и повышенными скоростями роста сгустка соответственно (рис. 3Б).

Глобальные тесты гемостаза при сепсисе

Тромбоэластография и тест генерации тромбина при сепсисе

В работе [9] было исследовано состояние гемостаза у 55 больных сепсисом и септическим шоком методами АЧТВ, ТЭГ и тестом генерации тромбина. По результатам исследования в первые сутки наблюдения гиперкоагуляция по АЧТВ выявлялась лишь в 16% случаев, гиперкоагуляция по тромбоэластограмме (укорочение R) обнаруживалась в 13% случаев, по тесту генерации тромбина повышенный уровень эндогенного тромбинового потенциала регистрировался у 53% больных (рис. 4). Тромбинемия, регистрируемая по величине ЭТП, сохранялась на протяжении всего периода наблюдения (28 суток). Однако при быстром нарастании полиорганной недостаточности наблюдалось снижение ЭТП до нулевых значений. При этом изменения АЧТВ и параметров ТЭГ носили неспецифический характер.

В работе [27] на примере 38 больных с тяжелым сепсисом было показано, что ТЭГ при

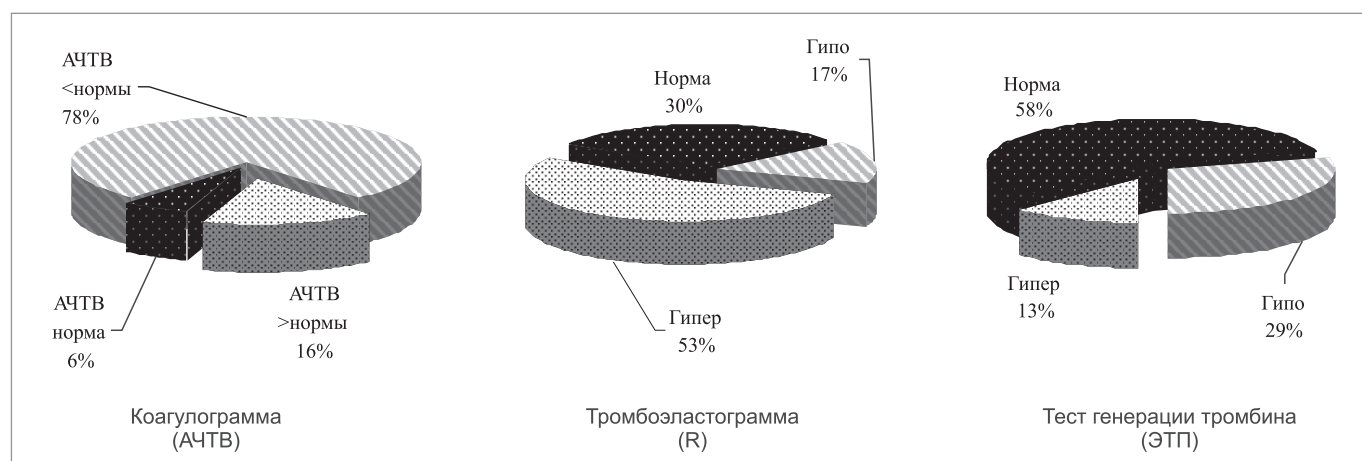


Рис. 4. Активация свертывания у больных сепсисом в первые сутки наблюдения [9].

сепсисе отражает замедленную фазу активации свертывания (увеличение R) (уровень достоверности различия с контрольной группой (32 добровольца) $p=0,04$) в сочетании с последующей ускоренной фазой образования сгустка ($p<0,01$).

Тест генерации тромбина в бедной тромбоцитами плазме у этих больных выявлял удлинённый лаг-тайм ($p<0,02$), уменьшенную максимальную концентрацию тромбина ($p<0,02$) и удлинённое время достижения максимума ($p<0,001$) (рис. 5). Однако величина эндогенного тромбоинового потенциала не отличалась между группой больных сепсисом и контрольной группой. Эндогенный тромбоиновый потенциал в богатой тромбоцитами плазме был снижен вследствие тромбоцитопении у больных сепсисом.

Таким образом, ТЭГ и ТГТ выявляли замедленную фазу активации свертывания с последующей нормальной или ускоренной фазой

формирования сгустка/генерации тромбина.

Гипокоагуляция, согласно ТЭГ и тесту генерации тромбина, чаще наблюдается у больных с ДВС-синдромом [9, 50–52]. Однако имеются исследования [53], в которых показано, что у больных с тяжелым сепсисом, несмотря на активацию свертывания, не выявляются изменения по ТЭГ.

Тромбодинамика при сепсисе

В работе [49] были исследованы изменения в состоянии свертывания крови у 16 больных с сепсисом и септическим шоком в процессе их лечения на протяжении месяца с момента диагностирования инфекции. Для оценки состояния гемостаза использовались: тесты времени свертывания, ТЭГ, тест на Д-димеры, тромбодинамика. Так как больные, включенные в исследование, имели исходно разные состояния системы свертывания и в дальнейшем получали разную антикоагулянтную терапию, их данные анализировались индивидуально.

Тромбодинамика у больных с сепсисом и септическим шоком. На рисунке 6 представлена динамика параметров гемостаза больного с септическим шоком, у которого развился тромбоз левой внутренней яремной вены на 5 день наблюдения. Больной получал терапию активированным протеином С с первого дня шока.

В день окончания курса терапии у него развился тромбоз, и больному с 5 по 22 дни была назначена терапия нефракционированным гепарином, а затем с 23 по 27 день — терапия низкомолекулярным гепарином (фраксипарином). Тромбодинамика выявила у больного гиперкоагуляцию с образованием спонтанных сгустков

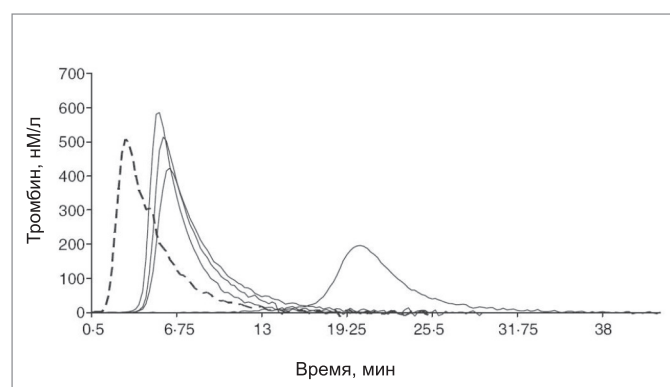


Рис. 5. Тест генерации тромбина при сепсисе. Характерные кривые генерации тромбина для 4 пациентов с сепсисом (сплошные линии) по сравнению с контролем (прерывистая линия) [27].

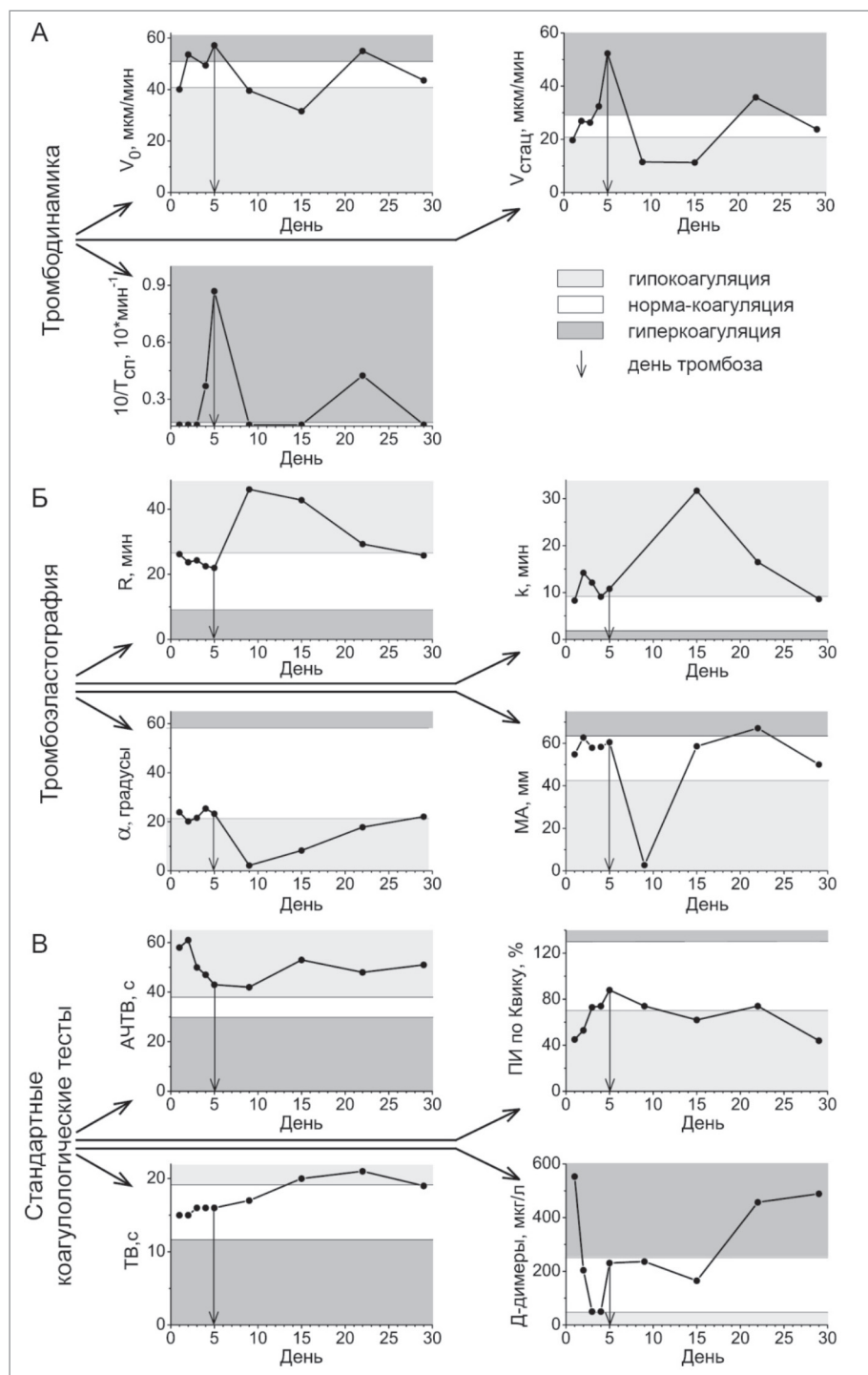


Рис. 6. Динамика параметров коагулологических тестов у больного с септическим шоком [49].

зование спонтанных сгустков на рис. 6 характеризуется зависимостью от времени $1/T_{сп}$ — чем больше эта величина, тем раньше появляются спонтанные сгустки в тесте, и тем более выражена гиперкоагуляция.

Концентрация Д-димеров в плазме оставалась в пределах нормальных значений на момент тромбоза и повысилась лишь на 22-е сутки. Значения тестов АЧТВ, протромбина по Квику, ТВ и ТЭГ были на момент выявления тромбоза в пределах соответствующих диапазонов норм. Таким образом, тромбодинамика оказалась более чувствительным методом выявления активации системы свертывания крови при сепсисе, чем стандартные клоттинговые тесты свертывания, ТЭГ, а также тест на Д-димеры.

После назначения гепарина по данным тромбодинамики, АЧТВ и ТЭГ выявляли гипokoагуляцию. В день перерыва в антикоагулянтной терапии с помощью тромбодинамики вновь выявили гиперкоагуляцию, а в конце периода наблюдения параметры теста вернулись в область нормальных значений.

Значения тестов времени свертывания (АЧТВ, протромбин по Квику, ТВ) на протяжении всего периода наблюдения находились в области нормы либо регистрировали гипokoагуляцию, что согласуется с данными других источников [26, 27]. Аналогичная динамика показателей клоттинговых тестов и ТЭГ наблюдалась у всех больных, включенных в исследование.

Из всех общепринятых тестов для выявления активации свертывания при сепсисе наиболее чувствительным было исследование плазменной концентрации Д-димеров. Но повышение плазменной концентрации Д-димеров отражает

уже на 4-е сутки наблюдения, т.е. за сутки до появления клинических признаков венозного тромбоза.

Среди параметров тромбодинамики для выявления гиперкоагуляции наиболее чувствительной оказалась стационарная скорость роста сгустка. Она была на 80% выше нормы на момент выявления тромбоза, в то время как начальная скорость превышала норму всего на 12%. Обра-

процесс лизиса тромбов и, следовательно, свидетельствует об уже состоявшемся тромбообразовании, т.е. является поздним маркером.

По результатам тромбодинамики состояние гиперкоагуляции наблюдалось в 36 из 116 (31%) случаев, при этом в 33 из 36 (92%) случаев увеличение скоростей сопровождалось наличием спонтанных сгустков.

Динамика стационарной скорости роста сгустка и плазменной концентрации Д-димеров у больных с гиперкоагуляцией. Всего по результатам исследования тромбодинамики у 6 больных наблюдалось развитие гиперкоагуляционного состояния. У 5 из 6 гиперкоагуляция подтвердилась последующим увеличением концентрации Д-димеров в плазме крови (рис. 7А). При этом резкого повышения уровня Д-димеров не наблюдалось, если параметры тромбодинамики у этих больных находились в области нормальных значений или гипокоагуляции. На рисунке 7А показана динамика стационарной скорости роста сгустка и концентрации Д-димеров в плазме для этих 5 больных.

На рисунке 7Б приведено сравнение концентраций Д-димеров в плазме крови между группами больных с гиперкоагуляцией либо нормальными значениями и гипокоагуляцией, оцененными по результатам тромбодинамики.

Статистическое сравнение проводилось на основании 39 пар данных по плазменным концентрациям Д-димеров и стационарным скоростям, полученных при наблюдении за 6 больными с гиперкоагуляцией.

Значения концентраций Д-димеров в плазме в группах, разделенных в соответствии со значениями стационарной скорости роста сгустка, измеренными в тот же день, статистически значимо не отличались. Среднее значение уровня Д-димеров в группе, соответствующей $V_{\text{стац}} \geq 29$ мкм/мин, составляло 402 мкг/л, а в группе, соответствующей $V_{\text{стац}} < 29$ мкм/мин, — 359 мкг/л. Значения концентраций Д-димеров в плазме в группах, разделенных в соответствии со значениями стационарной скорости роста сгустка на момент предыдущего измерения, статистически достоверно отличались по U-критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$). Средние значения уровней Д-димеров составляли 457 мкг/л и 234 мкг/л для групп, соответствующих по тромбодинамике гиперкоагуляции ($V_{\text{стац}} \geq 29$ мкм/мин) либо

норме и гипокоагуляции ($V_{\text{стац}} < 29$ мкм/мин) соответственно.

Таким образом, с помощью тромбодинамики гиперкоагуляцию регистрировали раньше повышения концентрации Д-димеров в плазме крови.

Оценка различий в плазменной концентрации Д-димеров у больных с гипокоагуляцией либо нормой и гиперкоагуляцией по данным АЧТВ и ТЭГ. Поскольку клоттинговые тесты и ТЭГ выявляли гиперкоагуляцию достаточно редко (в 1–2 случаях), было решено сравнить концентрации Д-димеров в плазме, соответствующие гипокоагуляции либо норме и гиперкоагуляции, которые регистрировались по тестам АЧТВ и ТЭГ. Группы Д-димеров разделялись в соответствии со значениями рассматриваемых тестов в этот же день либо на момент предыдущего измерения.

Не найдено статистически значимых различий между плазменными концентрациями Д-димеров как в группах, разделенных в соответствии со значениями АЧТВ и ТЭГ (гипо- либо норма- и гиперкоагуляция), измеренными в тот же день, так и в группах, разделенных в соответствии со значениями параметров этих тестов на момент предыдущего измерения.

Таким образом, ни один из рассматриваемых тестов не выявлял гиперкоагуляцию раньше или одновременно с тестом на уровень Д-димеров в плазме.

Информативность тромбодинамики у больных без прогрессирующей гиперкоагуляции. У оставшихся 10 больных с сепсисом и септическим шоком в первые дни наблюдения плазменная концентрация Д-димеров значительно превышала норму, в дальнейшем она оставалась такой же или постепенно снижалась. По данным тромбодинамики в случае выздоровления наблюдалась нормализация свертывания (4 больных), либо в случае летального исхода (6 больных) регистрировалось развитие гипокоагуляции. Параметры остальных тестов также находились в пределах нормы либо гипокоагуляции. По данным тромбодинамики, у 3 из 6 больных с летальным исходом изначально наблюдалась гиперкоагуляция, у других 3 — гипокоагуляция. Скорости роста сгустка во второй группе так и оставались сниженными все время наблюдения, а в первой группе наблюдалось изменение пара-

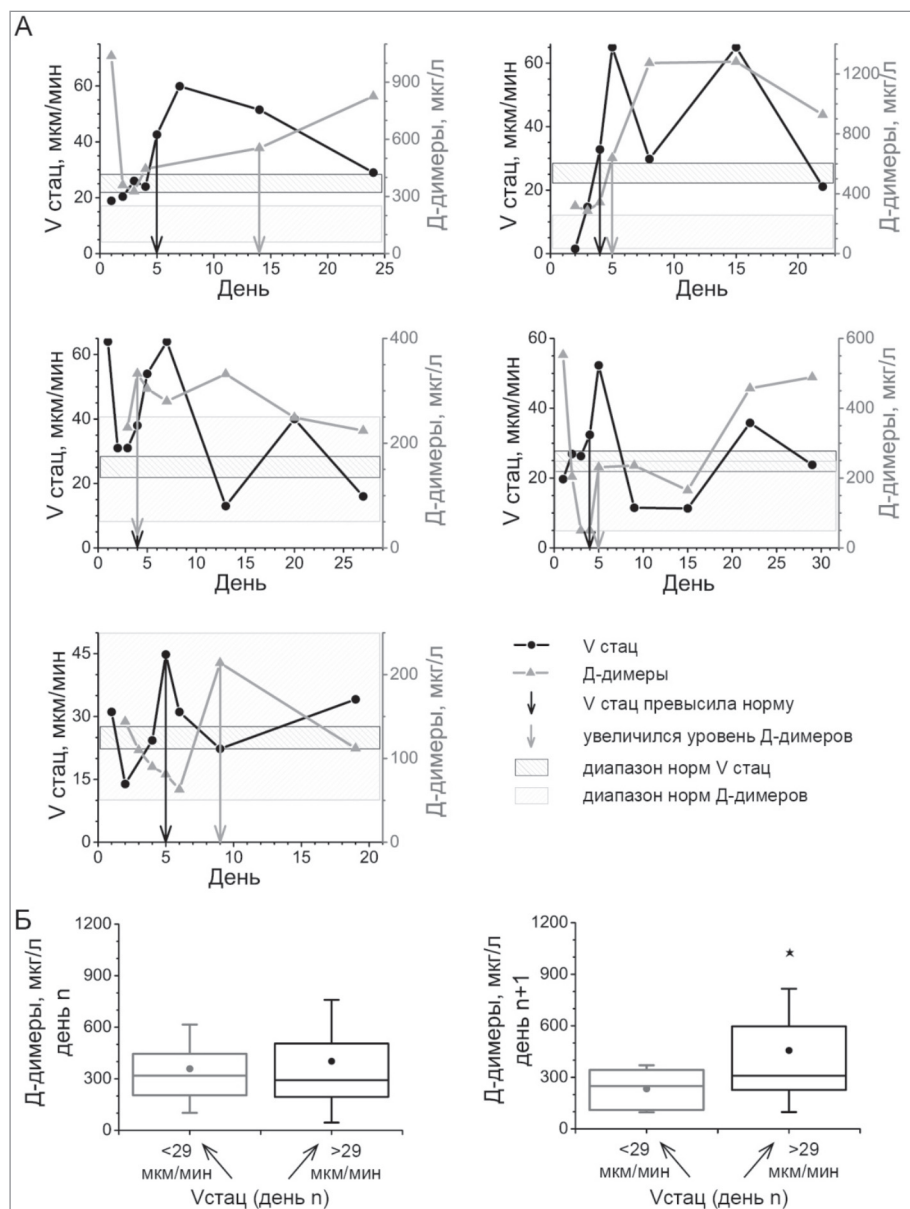


Рис. 7. Сравнение динамики стационарной скорости роста сгустка и концентрации Д-димеров.

На рисунке 7А представлена динамика стационарной скорости и концентрации Д-димеров в плазме у 5 больных за время наблюдения.

На рисунке 7Б - статистическое сравнение плазменных концентраций Д-димеров, разделенных на группы по соответствующим значениям стационарной скорости в тот же день (слева) либо на момент предыдущего измерения (справа). * — $p < 0,05$ [49].

но, что тромбодинамика оказалась чувствительной к активации системы свертывания крови при сепсисе, причем этот тест способен регистрировать гиперкоагуляцию раньше теста на Д-димеры и может быть использован как ранний маркер тромботических осложнений.

Заключение

Развитие воспалительного процесса при сепсисе неизменно сопровождается возникновением дисбаланса в системе гемостаза: активацией системы свертывания с одновременным подавлением антикоагулянтных механизмов и системы фибринолиза. Причем усиление активации гемостаза вызывает, в свою очередь, усиление воспалительного ответа. Такая взаимосвязь между этими системами, с одной стороны, приводит к необходимости мониторировать состояние системы свертывания крови при сепсисе, а с другой — открывает дополнительные возможности для терапии сепсиса.

Современные клоттинговые методы оценки состояния гемостаза нечувствительны к активации свертывания при сепсисе. Поэтому оценка диагностических возможностей новых глобальных методов исследования гемостаза чрезвычайно важна.

метров тромбодинамики из области гипер- в область гипокоагуляции. В целом у всех умерших больных наблюдалась схожая картина уменьшения стационарной скорости роста сгустка в терминальной стадии болезни. Такое уменьшение скорости наряду со значительным повышением концентрации Д-димеров свидетельствует о развитии коагулопатии потребления.

Таким образом, в работе [49] было показа-

литературы, метод ТЭГ далеко не всегда выявляет активацию свертывания при сепсисе. Это может быть связано с тем, что ТЭГ проводится с использованием цельной крови, и на ее результат (параметры МА и α) непосредственно влияет функция тромбоцитов, поэтому в условиях тромбоцитопении, часто наблюдаемой у больных с сепсисом, ее параметры могут находиться в области нормальных либо сниженных значе-

ний. Кроме того, на ее результат может влиять снижение концентрации факторов свертывания из-за потребления. По данным разных авторов, эндогенный тромбиновый потенциал может быть как в норме, так и увеличен у пациентов с сепсисом.

Тромбодинамика представляется одним из наиболее перспективных методов для диагностики состояния системы свертывания при сепсисе. Этот тест чувствителен к активации системы свертывания крови при сепсисе, причем он способен регистрировать гиперкоагуляцию раньше теста на Д-димеры и может быть использован как ранний маркер тромботических осложнений.

Проведение новых исследований для оценки диагностического потенциала обсуждаемых методов (и их различных модификаций) для

определения состояния гемостаза при сепсисе и, в частности, непосредственное сравнение данных этих тестов на одной группе пациентов необходимо для окончательного заключения о возможности их использования для прогнозирования возникновения тромбозов у пациентов с сепсисом.

Благодарности

Работа была частично поддержана грантами РФФИ 10-01-91055, 11-04-00303, 11 04 12080, 12-04-00652, 12-04-00438 и программами фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», «Фундаментальные науки — медицине», «Интегративная физиология», «Молекулярные механизмы физиологических функций».

Список литературы

1. Esmon CT, Fukudome K, Mather T, Bode W, Regan LM, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S. Inflammation, sepsis, and coagulation. *Haematologica* 1999; 84: 254–259.
2. Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie* 2010; 30: 10–16.
3. McGilvray ID, Rotstein OD. Role of the coagulation system in the local and systemic inflammatory response. *World J Surg* 1998; 22: 179–186.
4. Sun H, Wang X, Degen JL, Ginsburg D. Reduced thrombin generation increases host susceptibility to group A streptococcal infection. *Blood* 2009; 113: 1358–1364.
5. Levi M, Opal SM. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Crit Care* 2006; 10: 222.
6. Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M. Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and thromboembolic disease. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2010; 2: e2010024.
7. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999; 340: 207–214.
8. Levi M, de J E, van der PT. Sepsis and disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Thrombolysis* 2003; 16: 43–47.
9. Кречетова А. В. Нарушение гемостаза при сепсисе у онкогематологических больных в период миелотоксического агранулоцитоза. Москва: 2011.
10. Levi M, Ten CH. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999; 341: 586–592.
11. Marder VJ, Feinstein D, Francis C. Consumptive thrombohemorrhagic disorders. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ (editors). *Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice*. Philadelphia: JB Lippincott Co, 2001; 1023–1063.
12. Voves C, Wuillemin WA, Zeerleder S. International Society on Thrombosis and Haemostasis score for overt disseminated intravascular coagulation predicts organ dysfunction and fatality in sepsis patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2006; 17: 445–451.
13. Levi M, Marder VJ. Coagulation abnormalities in sepsis. In: Colman RW, Clowes AW, Goldhaber SZ, Marder VJ, George JN (editors). *Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice*. Philadelphia: Lippincott Company, 2006.
14. Szotowski B, Antoniak S, Poller W, Schultheiss HP, Rauch U. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines. *Circ Res* 2005; 96: 1233–1239.
15. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, van der PT. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 536–545.
16. Zeerleder S, Hack CE, Wuillemin WA. Disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Chest* 2005; 128: 2864–2875.
17. Carey MJ, Rodgers GM. Disseminated intravascular coagulation: clinical and laboratory aspects.

Am J Hematol 1998; 59: 65–73.

18. Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000; 407: 258–264.

19. Esmon CT. Role of coagulation inhibitors in inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86: 51–56.

20. Mammen EF. Antithrombin III and sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24: 649–650.

21. Bastarache JA, Ware LB, Bernard GR. The role of the coagulation cascade in the continuum of sepsis and acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Semin Respir Crit Care Med* 2006; 27: 365–376.

22. Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE, Pettila V, Basson B, Brandt JT, Sundin DP, Levi M. Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1924–1933.

23. Галстян Г. М., Шутова Н. А., Городецкий В. М. Антитромбин III в лечении сепсиса — новые подходы к назначению старого препарата. *Анестезиология и реаниматология* 2007; 6: 66–71.

24. Knoebl P, Dempfle CE. Blood coagulation and inflammation in critical illness. *Bremen: UNI-MED*, 2008.

25. Baglin T. Using the laboratory to predict recurrent venous thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2011; 33: 333–342.

26. Dempfle CE. Coagulopathy of sepsis. *Thromb Haemost* 2004; 91: 213–224.

27. Collins PW, Macchiavello LI, Lewis SJ, Macartney NJ, Saayman AG, Luddington R, Baglin T, Findlay GP. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br J Haematol* 2006; 135: 220–227.

28. Kinasevitz GT, Yan SB, Basson B, Comp P, Russell JA, Cariou A, Um SL, Utterback B, Laterre PF, Dhainaut JF. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism [ISRCTN74215569]. *Crit Care* 2004; 8: R82–R90.

29. Stief TW, Ijagha O, Weiste B, Herzum I, Renz H, Max M. Analysis of hemostasis alterations in sepsis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007; 18: 179–186.

30. Salooja N, Perry DJ. Thrombelastography. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; 12: 327–337.

31. Luddington RJ. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clin Lab Haematol* 2005; 27: 81–90.

32. Карамзин, С. С. Исследование биофизических аспектов пространственной динамики роста фибринового сгустка in-vitro. Москва: 2010.

33. Hemker HC, Giesen PL, Ramjee M, Wagenvoort R, Beguin S. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 2000; 83: 589–591.

34. Hemker HC, Beguin S. Phenotyping the clotting system. *Thromb Haemost* 2000; 84: 747–751.

35. Al DR, Peyvandi F, Santagostino E, Giansily M, Mannucci PM, Schved JF, Beguin S, Hemker HC. The thrombogram in rare inherited coagulation disorders: its relation to clinical bleeding. *Thromb Haemost* 2002; 88: 576–582.

36. Hemker HC, Al DR, Beguin S. Thrombin generation assays: accruing clinical relevance. *Curr Opin Hematol* 2004; 11: 170–175.

37. Dargaud Y, Trzeciak MC, Bordet JC, Ninet J, Negrier C. Use of calibrated automated thrombinography +/- thrombomodulin to recognise the prothrombotic phenotype. *Thromb Haemost* 2006; 96: 562–567.

38. Ataullakhanov FI, Guria GT, Sarbash VI, Volkova RI. Spatiotemporal dynamics of clotting and pattern formation in human blood. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1425: 453–468.

39. Ovanesov MV, Krasotkina JV, Ul'yanova LI, Abushinova KV, Plyushch OP, Domogatskii SP, Vorob'ev AI, Ataullakhanov FI. Hemophilia A and B are associated with abnormal spatial dynamics of clot growth. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572: 45–57.

40. Sinauridze EI, Volkova RI, Krasotkina YV, Sarbash VI, Ataullakhanov FI. Dynamics of clot growth induced by thrombin diffusing into nonstirred citrate human plasma. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1425: 607–616.

41. Kondratovich AY, Pokhilko AV, Ataullakhanov FI. Spatiotemporal dynamics of contact activation factors of blood coagulation. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1569: 86–104.

42. Ovanesov MV, Lopatina EG, Saenko EL, Ananyeva NM, Ul'yanova LI, Plyushch OP, Butilin AA, Ataullakhanov FI. Effect of factor VIII on tissue factor-initiated spatial clot growth. *Thromb Haemost* 2003; 89: 235–242.

43. Negrier C, Dargaud Y, Bordet JC. Basic aspects of bypassing agents. *Haemophilia* 2006; 12 Suppl 6: 48–52.

44. Ovanesov MV, Ananyeva NM, Pantelev MA, Ataullakhanov FI, Saenko EL. Initiation and propagation of coagulation from tissue factor-bearing cell monolayers to plasma: initiator cells do not regulate spatial growth rate. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 321–331.

45. Pantelev MA, Ovanesov MV, Kireev DA,

Shibeko AM, Sinauridze EI, Ananyeva NM, Butylin AA, Saenko EL, Ataullakhanov FI. Spatial propagation and localization of blood coagulation are regulated by intrinsic and protein C pathways, respectively. *Biophys J* 2006; 90: 1489–1500.

46. Sinauridze EI, Kireev DA, Popenko NY, Pichugin AV, Panteleev MA, Krymskaya OV, Ataullakhanov FI. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost* 2007; 97: 425–434.

47. Ovanesov MV, Panteleev MA, Sinauridze EI, Kireev DA, Plyushch OP, Kopylov KG, Lopatina EG, Saenko EL, Ataullakhanov FI. Mechanisms of action of recombinant activated factor VII in the context of tissue factor concentration and distribution. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008; 19: 743–755.

48. Parunov LA, Fadeeva OA, Balandina AN, Soshitova NP, Kopylov KG, Kumsikova MA, Gilbert JC, Schaub RG, McGinness KE, Ataullakhanov FI, Panteleev MA. Improvement of spatial fibrin formation by the anti-TFPI aptamer BAX499: changing clot size by targeting extrinsic pathway initiation. *J Thromb Haemost* 2011.

49. Soshitova NP, Karamzin SS, Balandina AN,

Fadeeva OA, Kretchetova AV, Galstian GM, Panteleev MA, Ataullakhanov FI. Predicting prothrombotic tendencies in sepsis using spatial clot growth dynamics. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012; 23: 498–507.

50. Sivula M, Pettila V, Niemi TT, Varpula M, Kuitunen AH. Thromboelastometry in patients with severe sepsis and disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009; 20: 419–426.

51. Daudel F, Kessler U, Folly H, Lienert JS, Takala J, Jakob SM. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Crit Care* 2009; 13: R42.

52. Seo JW, Kim HK, Kim JE, Park S, Cho HI. Prognostic values of the factor Xa-activated clotting time and endogenous thrombin potential in patients suspected of having disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res* 2009; 123: 565–572.

53. Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, Kollef MJ, Levi M, Reinhart K, Nelson DR. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. *Crit Care Med* 2005; 33: 341–348.

От новых технологий –
к высоким стандартам!

Определяем
ФИБРИНОГЕН
по-новому



**ТОЧНО,
БЫСТРО,
В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ,**

*ДЛЯ АВТОМАТИЧЕСКИХ
И ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКИХ КОАГУЛОМЕТРОВ*

ТЕХНОЛОГИЯ  СТАНДАРТ

656037, Россия, г. Барнаул, а/я 1351, ООО фирма «ТЕХНОЛОГИЯ-СТАНДАРТ». Тел./факс: (3852) 22-99-39, 27-13-00.
E-mail: mail@tehnologia-standart.ru, <http://www.tehnologia-standart.ru>

Офис в Москве: 109548, г. Москва, ул. Шоссейная, д.1, корп. 2.

Тел./факс: (495) 730-18-09, (495) 730-41-69, (499) 179-88-14. E-mail: tech-standart@yandex.ru

Коагулометры для современных лабораторий

Производительность и универсальность

Автоматические анализаторы Tcoag

- оптические и механические детекторы
- объем реакционной смеси 75 мкл
- любые клоттинговые, хромогенные и турбидиметрические тесты

Destiny Plus
до 180 тестов ПВ/час



Destiny Max
до 350 тестов ПВ/час



Humaclo Junior
1 канал



Humaclo Duo Plus
2 канала



Простота и надежность

Механические коагулометры Tcoag

- гемолиз, иктеричность и липемия проб не влияют на результат
- любые клоттинговые тесты (в т.ч. факторы свертывания и другие)

Гибкость и экономичность

Оптические коагулометры Hmap

- объем реакционной смеси 75 мкл
- любые клоттинговые, хромогенные и турбидиметрические тесты (в т.ч. Д-димер, факторы свертывания, протеины С и S, антитромбин III и другие)

KC 1 Delta
1 канал



KC 4 Delta
4 канала



АНАЛИТИКА
в лабораторной диагностике с 1989 года

ЗАО «АНАЛИТИКА», Москва
тел./факс (495) 737 0363, 748 1168
www.analytica.ru, info@analytica.ru

ЗАО «Аналитика» — эксклюзивный представитель
компаний Tcoag (Ирландия) и Hmap (Германия) в РФ

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Современные представления о структуре и функции фактора XIII

А. П. Момот, Н. В. Сидор

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

Фактор XIII (фактор Лаки-Лоранда, фибринстабилизирующий фактор, трансклутаминаза) представляет собой фермент, который на конечном этапе свертывания крови стабилизирует фибрин, в результате чего последний приобретает прочность и стойкость к действию фибринолитических агентов.

1. Структура, свойства и механизм действия фактора XIII

Фибринстабилизирующий фактор был открыт позднее всех других факторов гемостаза. В 1963 году Международный комитет по факторам свертывания признал этот фермент в качестве фактора свертывания крови и обозначил его как фактор XIII [1].

Клиническая значимость фибринстабилизирующего фактора стала очевидна в 1960 году, когда Duckert описал первый случай дефицита этого фактора у двух братьев, Пауля Ж. и Франца Ж., родители которых находились в близком родстве. Геморрагический диатез проявлялся длительными кровотечениями при порезах и ссадинах, после удаления зубов, рецидивирующими гематомами в местах ушибов, медленным заживлением ран с образованием обширных рубцов, субдуральными рецидивирующими гематомами. У Пауля Ж. на второй неделе перио-

да новорожденности возникло кровотечение из пуповины, потребовавшее хирургического гемостаза [2]. Вместе с тем первые наблюдения, предполагающие поперечное связывание фибрина, были опубликованы еще в 1923 году, когда G. Barkan и A. Gaspar показали, что фибриновый сгусток, сформированный в присутствии ионов кальция, становится нерастворимым в слабых основаниях, в том числе в мочеvine (3). Двадцать лет спустя К. С. Robbins подтвердил этот эксперимент с очищенным препаратом фибриногена и предположил существование «сывороточного фактора», увеличивающего прочность сгустка фибрина [4]. В дальнейшем К. Laki и L. Lorand определили, что этот фактор по своей природе является белком, и назвали его «фибринстабилизирующий фактор» [5–7]. В 1957–1961 гг. A. G. Loewy et al. получили данный белок в очищенном виде и охарактеризовали его ферментативную природу [8–12]. В последующие годы появилось много публикаций, посвященных как расшифровке структуры фактора XIII, так и изучению его роли в патологии человека.

1.1. Строение фактора XIII и его распределение на клеточном и тканевом уровнях

Согласно современным представлениям фактор XIII является уникальным профер-

ментом системы свертывания крови — аминокислотой γ -глутамилтрансферазой, относящейся к семейству тиоловых тканевых транскламиназ (КФ 2.3.2.13), действие которой направлено на образование γ -глутамил- ϵ -лизинных изопептидных связей [13, 14].

Выделяют плазменную и внутриклеточную форму фактора XIII.

Плазменный фактор XIII циркулирует в крови в виде профермента как гетеротетрамер (A_2B_2) с молекулярной массой 340 кДа [14, 15]. Он состоит из двух субъединиц А ($M_r \approx 75$ кДа), которые обладают ферментативной активностью, и двух субъединиц В ($M_r \approx 80$ кДа). Последние защищают субъединицу А от протеолитической деградации и препятствуют ее медленной спонтанной активации [16, 17]. Связь четырех субъединиц фактора XIII осуществляется ионным взаимодействием [18]. В плазме субъединица А всегда находится в комплексе с субъединицей В, в то время как последняя присутствует в избытке и примерно половина ее количества циркулирует в крови в свободном виде [19, 20]. Практически все молекулы фактора XIII в плазме крови нековалентно связаны с молекулой фибриногена [20–23].

Внутриклеточная форма фактора XIII ($XIII-A_2$) представлена двумя ферментативно активными субъединицами А [24–26]. Она обнаружена во многих клетках, в том числе в цитоплазме тромбоцитов [24–26], мегакариоцитов [27, 28], моноцитов и их костномозговых предшественников [28–30], макрофагов [30], гистиоцитов [31], дендроцитов [32] и хондроцитов [33]. На основании ПЦР-анализа фактор XIII- A_2 был идентифицирован в большинстве органов и тканей: в печени, почках, легких, скелетных мышцах, сердце, плаценте, матке, предстательной железе, в соединительной ткани [34–38].

В крови общее количество фактора XIII распределено примерно поровну между плазмой и тромбоцитами [39, 40]. Однако, учитывая то, что объем всего пула тромбоцитов во много раз меньше общего объема плазмы, в тромбоцитах концентрация фактора XIII примерно в 100–150 раз выше [24–26]. Большая часть тромбоцитарного фактора XIII локализуется в цитоплазме кровяных пластинок, и совсем небольшое его количество (около 5%) связано с мембраной [40, 41]. Кроме того, в α -гранулах тромбоцитов

была обнаружена плазменная форма фактора XIII- A_2B_2 . Однако ее количество незначительно (1–2%) по сравнению с цитоплазматическим (внутриклеточным) фактором XIII- A_2 [42].

Синтез фактора XIII

Рядом исследователей при помощи современных методов молекулярной диагностики было выявлено, что местом синтеза фактора XIII- A_2 являются мегакариоциты [27, 28], моноциты/макрофаги и их костномозговые предшественники [29, 43, 44].

Гены, кодирующие образование субъединицы А и субъединицы В фактора XIII, расположены в разных хромосомах. Ген субъединицы А картирован на хромосоме 6p24-25 [45], а ген субъединицы В — на хромосоме 1q31-32.1 [46]. Согласно проведенным исследованиям по пересадке печени и костного мозга и другим иммуногистохимическим исследованиям, основным источником субъединицы А плазменного фактора XIII является популяция или популяции клеток красного костного мозга [34, 47–49]. Вклад печени в данном случае является несущественным, но она является основным местом синтеза субъединицы В [37, 50]. Высвобождение субъединицы В происходит классическим секреторным способом, в то время как субъединица А высвобождается только при разрушении клетки [51]. По предположению авторов, субъединица А высвобождается из гематопоэтической ткани при деструкции клеток и уже в циркуляторном русле происходит ее объединение с субъединицей В.

1.2. Активация, механизм действия и ингибирование активности фактора XIII. Субстраты фактора XIII

Активация фактора XIII

В плазме фактор XIII находится в неактивной форме, как профермент. Физиологическим активатором плазменного фактора XIII ($XIII-A_2B_2$) является тромбин (фактор IIa). Последний гидролизует пептидную связь в цепи А, в результате чего от N-концевой части молекулы фактора XIII происходит отделение так называемого активационного пептида (АП), состоящего из 37 аминокислот [52, 53], с образованием субъединицы А', не обладающей пока еще ферментативной активностью (рис. 1).

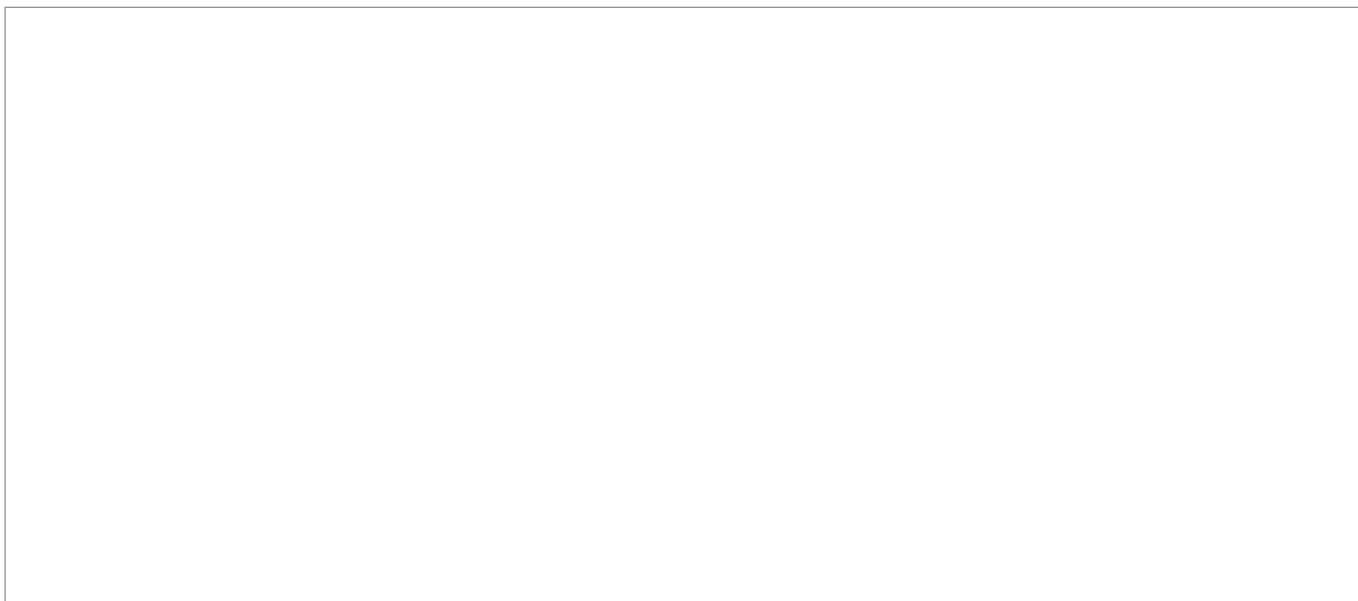


Рис. 1. Тромбин-зависимый (протеолитический) механизм активации плазменного пула фактора XIII.

Примечание: А — неактивированная субъединица А фактора XIII; В — субъединица В фактора XIII; АП — активационный пептид; А' — субъединица А после отделения тромбином АП, не обладающая ферментативной активностью; А* — протеолитически активированная форма субъединицы А фактора XIII

С помощью радиоструктурного анализа было показано, что после разрушения связи АП все еще остается в первоначальном положении, закрывая активный центр (АЦ), и вся молекула в целом не претерпевает никаких конформационных изменений по сравнению с проферментом [54]. В дальнейшем в присутствии низких концентраций ионов кальция происходит отделение субъединиц В и кальций-зависимое конформационное превращение молекулы [55, 56], в результате чего активный центр фермента становится доступным для взаимодействия с субстратами (рис. 1).

Ключевым регулятором активации плазменного фактора XIII является фибриноген. В отсутствии фибриногена потребность в ионах Ca^{++} становится больше и превышает его физио-

логическую концентрацию в плазме. Известно, что наличие фибриногена ускоряет протеолитическое отделение АП практически в 100 раз [57–59]. Однако более эффективным ускорителем является фибринполимер [60]. В то же время мономер фибрина не оказывает никакого эффекта на протеолитическую ступень активации, но он способствует диссоциации В-субъединиц от тромбин-активированного тетрамера ($\text{A}_2'\text{B}_2$) даже в отсутствие ионов Ca^{++} [59, 60].

В условиях *in vitro* возможна также активация фактора XIII без участия тромбина при концентрации ионов Ca^{++} , превышающей 50 мМ [61–63]. Тетрамер фактора XIII спонтанно диссоциирует и A_2 -димер превращается в активную трансклутаминазу — A_2^0 , что показано на рис. 2. Она также способна связывать фибрин, но менее

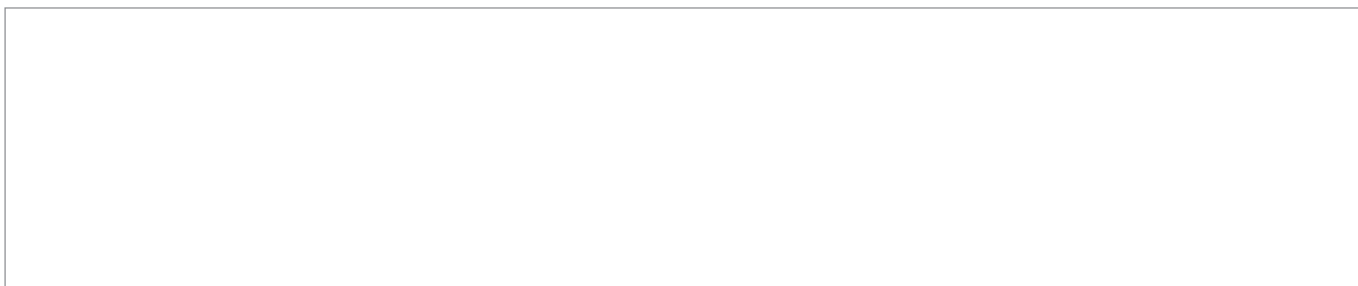


Рис. 2. Тромбин-независимый (непротеолитический) механизм активации плазменного пула фактора XIII.

Примечание: A_0 — непротеолитически активированная субъединица А

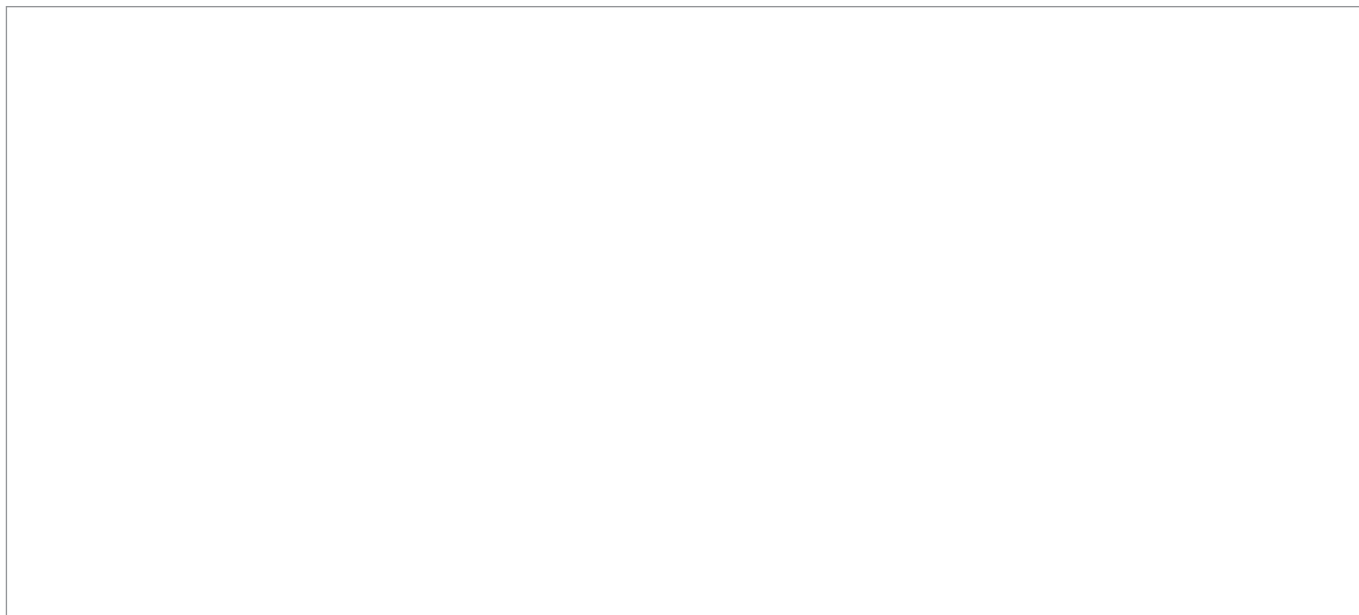


Рис. 3. Протеолитический механизм активации внутриклеточного фактора XIII.

Примечание: обозначения те же, что и в рис. 2

эффективно в сравнении с протеолитически активированной формой фермента – A_2^* [56].

Содержащийся внутри клеток фактор XIII *in vitro* активируется как и плазменный аналог, с помощью тромбина и ионов Ca^{++} (рис. 3). Хотя диссоциация В-субъединиц в данном случае не нужна, ионы Ca^{++} все же необходимы для конформационных изменений молекулы, обеспечивая ее трансклутаминазную активность [17].

Непротеолитический механизм активации внутриклеточного фактора XIII- A_2 , происходит

так же, как и плазменного фактора XIII- A_2V_2 [17]. В данном случае такая активация возможна и при низкой (физиологической) концентрации кальция (рис. 4), однако при нарастании ионной силы среды скорость реакции возрастает [64]. Поскольку тромбин не способен проходить через клеточную мембрану, высказано предположение, что при активации тромбоцитов увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{++} инициирует медленно прогрессирующий механизм активации фактора XIII- A_2 [17, 65].

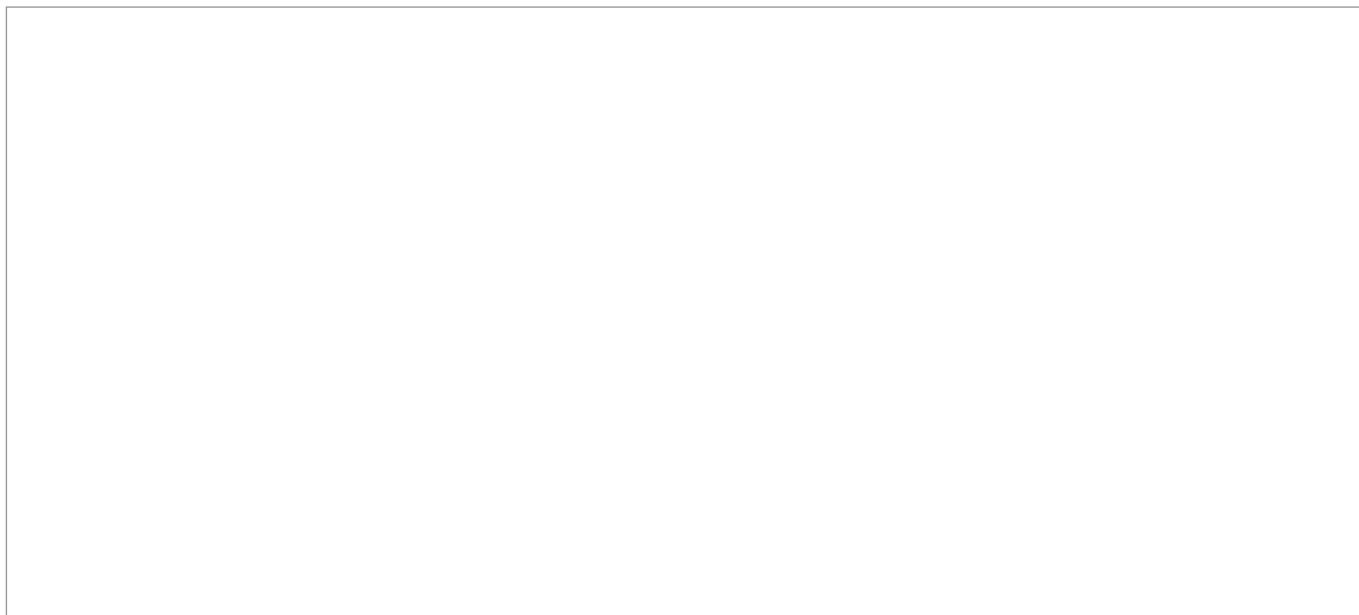


Рис. 4. Варианты непотеолитического механизма активации внутриклеточного фактора XIII

Примечание: обозначения те же, что и в рис. 2

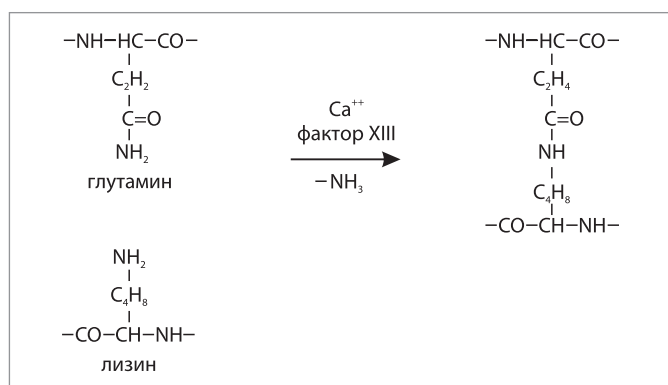


Рис. 5. Образование межмолекулярных γ -глутамил- ϵ -лизиновых изопептидных связей с помощью фактора XIIIa при стабилизации фибрина [14].

Механизм действия фактора XIIIa

Фактор XIII образует изопептидную связь между боковыми радикалами глутамина и лизина полипептидных цепей. Движущей силой этого процесса является отделение аминогруппы от глутамина и присоединение на это место аминогруппы лизина (рис. 5).

Фактор XIII высоко специфичен по отношению к глутамину, в то время как специфичность к аминосубстрату является более свободной. В эту реакцию могут вступать как амины с маленькой молекулярной массой, так и лизиновые окончания крупномолекулярного белка, образуя γ -глутамил- ϵ -лизин-изопептидную связь, которая соединяет полипептидные цепи [13, 14, 66].

Нарушение активации и ингибирование фактора XIIIa

Существует мало информации об инактивации фактора XIIIa и о его физиологических специфических ингибиторах. Известно, что когда степень поперечного связывания гамма-цепей мономера фибрина превышает 40%, способствующий активации фактора XIII эффект фибринполимера снижается [59]. Другой механизм нарушения активации фактора XIIIa осуществляется через тромбомодулин на сосудистой стенке. Тромбин, образуя комплекс с тромбомодулином, слабее активирует фактор XIII [67]. Допускается также протеолитическая деградация фактора XIIIa тромбином в высокой концентрации при длительной инкубации смеси [16, 55].

Молекула NO ингибирует активность фактора XIII, реагируя с тиоловыми группами

активного центра фермента [68]. Кроме того, было обнаружено, что яд змеи *Lonomia achelous caterpillars* избирательно разрушает обе субъединицы фактора XIII, приводя к развитию выраженного геморрагического синдрома [69, 70].

Субстраты фактора XIIIa

К числу основных субстратов фактора XIIIa относят молекулы фибриногена, олигомеров и полимеров фибрина [71–82], а также α_2 -антиплазмин [83–89]. Фибрин считается главным физиологическим субстратом фактора XIIIa. Последний катализирует димеризацию γ -цепей и полимеризацию α -цепей, в то время как β -цепи фибрина не вступают в эту реакцию [77, 78, 90, 91]. Фибриноген также может связываться фактором XIIIa, но гораздо медленнее, и при этом образуется менее устойчивая структура [72–76]. Один из основных ингибиторов плазмина, α_2 -антиплазмин [86], также является донором глутамина для фактора XIII, вследствие чего он может присоединяться к α -цепи фибрина [83, 85] и фибриногена [84]. Такое связывание происходит достаточно быстро, считается, что быстрее чем полимеризация α -цепей [88]. Однако в реакцию вступает только 30% α_2 -антиплазмина, что связывают с полиморфизмом данного белка [84, 89].

Также известно, что фактор XIII индуцирует образование промежуточных полимеров фактора V, у которого имеются как глутаминовые, так и лизиновые остатки [92–94]. К субстратам фактора XIIIa относят ингибитор активатора плазминогена-2 (PAI-2) [95], плазминоген [96, 97], белковый компонент атерогенных липопротеинов, структура которого схожа с таковой у плазминогена [98, 99]. Потенциальными субстратами фактора XIII являются также адгезивные белки: фактор Виллебранда [100, 101], фибронектин [102–109], витронектин [110, 111], тромбоспондин [112–114]. Мономеры фактора Виллебранда могут ковалентно связываться между собой фактором XIIIa, образуя большие полимерные комплексы [101], кроме того, фактор XIII может катализировать присоединение фактора Виллебранда к фибрину [101] и мономерам коллагена [100]. Фибронектин, высокомолекулярный плазменный гликопротеин и структурный компонент соединительной ткани, также присоединяется к фибрину под действием фактора XIIIa

[115]. Этот процесс протекает более активно после того, как сформируются высокомолекулярные полимеры α -цепей фибрина [116]. Имеются описания поперечного связывания фибронектина к коллагену [106] и к наружному клеточному матриксу [107, 108].

Интересно то, что большинство компонентов цитоскелета были идентифицированы как субстраты внутриклеточного фактора XIII [117]. К их числу относят актин [118], миозин [119], винкулин [120, 121], филамин [117].

1.3. Роль фактора XIII в свертывании крови

Гемостатическая функция фактора XIII в современной литературе объясняется двумя свойствами: 1) способностью стабилизировать фибриновый сгусток [72, 73, 76, 81]; 2) способностью препятствовать истечению крови за пределы сосудистой стенки за счет участия в упрочнении межклеточного взаимодействия эндотелиального слоя [123–126].

Циркулирующий в крови плазменный фактор XIII стабилизирует фибрин, который становится более резистентным к действию фибринолитических агентов и нерастворимым в 5М-мочевине [127–132]. Исследования Jansen et al. показали, что tPA-индуцированный фибринолиз сгустка происходит быстрее в случае ингибирования фактора XIIIa специфическими антителами [133]. Зависимость эффективности лизиса фибрина от уровня фактора XIII была подтверждена и другими авторами [134–136].

Важно отметить, что фактор XIII начинает стабилизацию фибрина еще до его выпадения в виде сгустка, т.е. в плазме при активации свертывания циркулируют поперечно сшитые растворимые олигомеры фибрина [82, 137–139]. Первоначально под действием фактора XIII происходит образование поперечных связей между α -цепями мономеров фибрина (D-D-димеризация). Этот процесс происходит достаточно быстро и обеспечивает первичную прочность сгустка [79–82, 140, 141]. В дальнейшем эта прочность возрастает по мере формирования связей между α -цепями молекул фибрина — α -полимеризация [77, 78, 128, 142, 143]. Показано, что ковалентное присоединение фибронектина к фибрину влияет на эластичность сгустка [85, 116, 144, 145], увеличивает размер фибриновых волокон и их плотность [131].

Вместе с тем проведенные исследования показывают, что прочность сгустка зависит не только от количества поперечных связей в фибрине, но и от наличия в его составе других компонентов плазмы, являющихся субстратами для фактора XIIIa [146]. Для обеспечения прочности сгустка наиболее важными из них являются α_2 -антиплазмин и активированный тромбином ингибитор фибринолиза — TAFI [83–88, 147, 148]. Jansen и др. показали в своей работе, что поперечное связывание α_2 -антиплазмина к α -цепям фибрина под действием фактора XIIIa является ключевым моментом, влияющим на эффективность фибринолиза [133]. При этом вначале происходит образование комплексов, состоящих из фибринмономера и α_2 -антиплазмина, а затем эти гетеродимеры встраиваются в высокомолекулярные α -полимеры фибрина [85, 87, 89]. Исходя из этих данных возникла новая гипотеза: ранняя защита сгустка от действия плазмина обеспечивается поперечным связыванием α_2 -антиплазмина к фибрину [149]. Параллельно протекающий, но более медленный процесс полимеризации α -цепей молекул фибринмономера отвечает за резистентность к тромболизису более старого тромба [142, 143, 149, 150]. Проявления недостаточности α_2 -антиплазмина клинически схожи с дефицитом фактора XIII [14, 88].

Второй аспект гемостатической функции фактора XIII связан с его важной ролью в упрочнении межклеточного пространства эндотелия сосудов, а также участие в обеспечении клеточной адгезии и миграции. Так, при местном лечении трофических язв на ногах препаратом фактора XIII замечено снижение эндотелиальной проницаемости сосудов [151]. Фактор XIII уменьшал проницаемость эндотелия при экспериментальном повреждении внутренней выстилки сосудов с помощью антиэндотелиальных антител [123]. Замечено, что при наличии поврежденного эндотелия системное назначение концентрата фактора XIII приводит к восстановлению эндотелия и снижению исходно повышенного уровня фактора Виллебранда, который является маркером эндотелиоза [124]. Недавно были выполнены исследования, направленные на изучение противоотечного действия фактора XIII и его влияние на сосудистую проницаемость для альбумина [125, 126]. Оказалось, что субъединица A фактора XIII как снижала бел-

ковую проницаемость эндотелиального монослоя, так и препятствовала отеку миокарда при ишемии, обусловленной тромбозом коронарных артерий. Таким образом, эти данные характеризуют ранее мало изученную роль фактора XIII — способность поддерживать барьерную функцию эндотелия.

Роль внутриклеточной формы фактора XIII изучена недостаточно. Имеются сообщения, что внутриклеточный фактор XIII активируется в цитоплазме тромбоцитов, формируя поперечные связи между белками цитоскелета [64, 65, 117, 120, 121]. Значительное количество этих белковых полимеров образуется в ту фазу активации тромбоцитов, когда процесс секреции и агрегации тромбоцитов снижается, т. е. во время ретракции сгустка [152, 153, 154].

1.4. Участие тромбоцитов в стабилизации фибрина

Интересной, но все еще мало изученной остается роль тромбоцитов в стабилизации фибрина. Прежде всего это связано с тем, что в самих тромбоцитах заключено большое количество (около 50% всего пула) внутриклеточной формы фактора XIII ($XIII-A_2$) и роль ее еще недостаточно ясна.

Имеются сообщения, что степень поперечного связывания фибрина зависит как от концентрации в плазме фактора XIII (A_2B_2), так и от количества тромбоцитов [136, 155–158]. По сравнению с бедной тромбоцитами плазмой в богатой тромбоцитами плазме поперечное связывание $\alpha 2$ -антиплазмина к фибрину происходит более интенсивно, при этом скорость фибринолиза уменьшается [136]. Reed предположил, что тромбоцитарный фактор XIII (A_2) дополняет плазменный фактор XIII (A_2B_2) в реакции поперечного связывания [155, 156]. Однако Aoki не мог подтвердить эту гипотезу, поскольку в данных экспериментах не учитывалось возможное влияние самих тромбоцитов на свойства фибринового сгустка [157]. Исследования Nevessy показали, что в богатой тромбоцитами плазме тромбоцитарный фактор XIII (A_2) незначительно используется, если вообще задействован, в процессе поперечного связывания [158]. При этом как нормальные тромбоциты, так и тромбоциты, не содержащие фактор XIII

(A_2), значительно ускоряют поперечное связывание фибринмономеров. Таким образом, можно предположить, что эффект тромбоцитов, потенцирующий стабилизацию фибрина, не связан с содержанием в них фактора XIII- A_2 .

Определено, что фактор XIII связывается преимущественно с активированными тромбоцитами [159]. Greenberg и Shuman описали существование поверхностного рецептора на мембране для активированного фактора XIIIa; причем этот рецептор обнаруживается только на тромбоцитах, активированных тромбином [160]. На мембране тромбоцитов фактор XIIIa сохраняет свою ферментативную активность. Эти авторы показали также, что фактор XIIIa связывается с тромбоцитами при тромбастении Гланцмана, при которой на этих клетках отсутствуют рецепторы GPIIb-IIIa. Однако по виду рецептора, связывающего фактор XIII, в литературе существуют противоречивые данные. Sox обнаружил, что моноклональные антитела к GPIIb-IIIa предупреждают связывание фактора XIIIa к активированным тромбином тромбоцитам. Кроме того, фактор XIIIa связывался с очищенным комплексом GPIIb-IIIa [161].

Исходя из того, что фибринстабилизирующий фактор связывается с рецептором на активированных тромбоцитах, оставаясь при этом ферментативно активным, Musbeck et al. предположили, что фактор XIIIa направляется и концентрируется в местах, где формируется тромбоцитарная пробка [1]. Все эти данные помогут в дальнейшем уточнить роль тромбоцитов в стабилизации фибрина.

2. Методы определения фактора XIII

Определение основных параметров гемостаза (количество тромбоцитов, время кровотечения, АПТВ, протромбиновое и тромбиновое время свертывания, концентрация фибриногена) не дает информации об аномалиях количественного содержания фактора XIII, в связи с чем данная патология часто не выявляется [162, 163]. Прогресс в познании роли фактора XIII в механизмах развития нарушений гемостаза был обусловлен созданием методических приемов его количественного определения. Суммируя данные литературы, все известные методы определения фактора XIII можно разделить на имму-

нологические и функциональные.

Иммунологические методы предусматривают определение уровня антигена фактора XIII в плазме крови, на основе использования, как правило, моноклональных антител. Наиболее распространенным среди них является метод иммуноферментного анализа (ELISA), с помощью которого измеряют количество антигена как всего тетрамерного комплекса фактора XIII (A_2B_2), так и его субъединиц А и В в отдельности [164, 165]. Поскольку концентрация субъединиц А и В в плазме крови может изменяться независимо друг от друга, концентрация всего тетрамерного комплекса отражает истинный уровень фактора XIII [166]. Вместе с тем при наследственном дефиците фактора XIII отдельное определение его субъединиц позволяет идентифицировать генетический тип заболевания соответственно имеющейся генетической классификации [167, 168].

Важно отметить, что в большинстве публикаций между уровнем антигена фактора XIII и его специфической активностью, оцененной с помощью функциональных методов исследования, отмечается прямая корреляционная связь [69, 169–171]. В то же время имеются отдельные сообщения, указывающие, что лица с высоким уровнем антигена фактора XIII могут иметь низкую функциональную активность данного фактора, и наоборот [172]. Исследования Anwar et al., проведенные в популяции практически здоровых людей, также выявили слабую ($r=0,324$) корреляционную связь между уровнем антигена и функциональной активностью фактора XIII [173]. Тем не менее, суммируя имеющуюся информацию, мы пришли к заключению, что первичный скрининг патологических сдвигов фактора XIII можно проводить с помощью функциональных методов анализа (см. ниже). На втором этапе, при имеющемся снижении функциональной активности фактора XIII, показано иммунологическое определение субъединиц А и В, что позволяет идентифицировать тип генетического дефекта.

Ниже приводится анализ существующих на сегодняшний день функциональных методов определения активности фактора XIII. Эти способы оценивают фактор XIII по его специфической активности в плазме крови, освобожденной от тромбоцитов. В соответствии с используемым

принципом их разделяют [172] на две группы.

Фотометрические методы, в т.ч.:

а) методы, основанные на измерении количества высвободившегося в результате реакции аммиака [174, 175];

б) методы, оценивающие активность фактора XIIIa по количеству образовавшихся связей между молекулами специфических субстратов для фактора XIII, при использовании аминов, меченных радиоизотопной [176] или флюоресцентной метками [177, 178], а также с применением хромогенных субстратов [179–182];

Методы, основанные на оценке растворимости фибринового сгустка [5], стабилизированного фактором XIIIa, в слабой кислоте (монохлоруксусной) или основаниях (мочевина).

Фотометрические методы относят к числу достаточно точных при определении активности фактора XIIIa в плазме крови. Наибольшее распространение получили те из них, которые основаны на высвобождении аммиака в результате ферментативной реакции [174, 175, 183–185]. Данная реакция протекает между двумя специфическими пептидными субстратами под действием фактора XIIIa, источником которого является исследуемая плазма. Для предотвращения образования фибринового сгустка, который отрицательно влияет на результаты исследования, в реагирующую смесь добавляют ингибитор полимеризации фибрина (монойод-ацетат). Высвободившийся аммиак вступает в окислительно-восстановительную реакцию с α -кетоглутаровой кислотой под действием глутаматдегидрогеназы, в результате чего происходит окисление NAD H до NAD. Снижение NAD H измеряется по изменению оптической плотности при 340 нм. В данном случае используется свойство NAD H поглощать данную длину волн. Трансформация 1M NAD H в NAD во время транслутаминазной реакции соответствует освобождению 1M-аммиака. Таким образом, активность фактора XIIIa оказывается прямо пропорциональной интенсивности окисления NAD H.

Наибольшее признание получил среди указанных способов кинетический метод определения активности фактора XIIIa, предложенный Fickensher в 1991 году [175]. При апробации у больных данный метод оказался достаточно чувствительным и был рекомендован для широ-

кого применения в клинической практике [186–188]. Однако, по мнению Heins et al., этот метод имеет существенный недостаток: гиперфибриногенемия приводит к ложному занижению определяемого показателя активности фактора XIII. В связи с чем этой группой исследователей была предложена модификация метода для исключения влияния концентрации фибриногена на результаты теста [189]. Наконец, более поздняя модификация была предпринята Karpati в 2000 году, в результате чего была увеличена чувствительность и точность метода путем создания нового глутаминового субстрата, заменой NAD H на NADP H, а также подбора оптимального соотношения концентраций субстратов и активаторов фактора XIII [190]. На этой основе фирмой Dade Behring был создан и запущен в производство диагностический набор реагентов Berichrom®FXIII.

В последнее время были разработаны и внедрены новые колориметрические методы, использующие для оценки транслугтаминазной активности фактора XIII хромогенные субстраты. Принцип метода заключается в образовании изопептидных связей под действием фактора XIIIa между специфическими субстратами: так называемым аминсубстратом (biotinyl-cadaverine) и иммобилизованным на планшете глутаминовым субстратом (dimethylcasein или fibrinogen). Этот комплекс выявляется с помощью моноклональных антител, конъюгированных с ферментом (streptavidin). Последний расщепляет добавленный хромогенный субстрат (p-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside или p-nitrophenyl-phosphate), при этом по интенсивности образующейся окраски судят об активности фактора XIIIa [179–181]. В Швейцарии в 2001 году был разработан колориметрический метод определения активности фактора XIII, на основе которого фирмой Pentapharm был создан диагностический набор реагентов Pefakit®FXIII Incorporation Assay [172]. При апробации у здоровых людей, а также у больных с наследственным дефицитом фактора XIII, включая использование в целях мониторинга заместительной терапии концентратами фактора XIII, этот метод показал высокую специфичность (отсутствие влияния фибриногена на результаты анализа) и чувствительность (измерение от 0% и выше). Особенностью метода является возможность

определять повышенную активность фактора XIIIa при наличии мутации Val34Leu субъединицы A фактора XIII.

Другую большую группу представляют методы, основанные на оценке растворимости фибринового сгустка в слабых кислотах и основаниях. К их числу относится еще широко используемый для проведения скрининга в клинических лабораториях способ оценки фибринстабилизирующей активности плазмы крови по лизису фибринового сгустка в растворе 5М-мочевины (5). Данный сгусток получается из фибриногена исследуемой стабилизированной цитратом плазмы в процессе ее рекальцификации. Основным недостатком методики является его низкая чувствительность, поскольку получаемый сгусток растворяется лишь при глубоком (<2%) дефиците фактора XIII [191–193]. Но в силу доступности и простоты выполнения он все же используется для проведения скрининга наследственного дефицита фактора XIII, частота которого, впрочем, крайне низка — по данным разных авторов 1 случай на 2 000 000–5 000 000 [14, 194]. Учитывая то, что кровоточивость при врожденном дефиците фактора XIII возникает и при менее выраженном дефекте (3–10% активности фактора XIII), информативность метода представляется сомнительной [195].

Сравнительно более чувствительный метод определения фактора XIII предложили Sigg et al. в 1966 году [196]. Этот метод также основан на свойстве полученного при рекальцификации плазмы фибринового сгустка, стабилизированного фактором XIIIa, быть нерастворимым в растворе 5М-мочевины. Чувствительность была повышена за счет того, что в методику введено титрование фактора XIII в плазме с помощью монойодуксусной кислоты, являющейся ингибитором активного центра фермента. Остаточная активность фактора XIII далее определяется по степени лизиса сгустка, что оценивается затем в баллах (от 0 до 4). На основании суммы баллов по калибровочной кривой авторы предложили определение количества фактора XIII в процентах от нормы.

Отечественными учеными были разработаны две модификации последнего способа, в которых активность фактора XIIIa в пробе также изначально ограничивается добавлением монойодуксусной кислоты, но в одной фиксиро-

ванной концентрации [197, 198].

В частности, в методе, предложенном В. П. Балудой и соавт. в 1965 году, лизис полученного при рекальцификации плазмы сгустка оценивается по времени его растворения (в норме около 70 секунд) в растворе 0,12% кислой щавелевокислой мочевины. Результаты рассчитываются также в процентах от нормы в зависимости от времени лизиса. Г. В. Андреев и соавт. [198] усовершенствовали последний метод, исключив влияние концентрации фибриногена на результаты исследования, путем введения в формулу расчета поправки на этот белок.

При всех известных достоинствах два последних метода имеют следующие существенные недостатки [199]:

1. Влияние колебаний температуры от 10° до 30°C на результаты исследования.
2. Использование эндогенного фибриногена в качестве субстрата для определения активности фактора XIII не всегда удобно в связи с тем, что в плазме отдельных больных может быть нарушена рекальцификация в силу разных причин (гепаринотерапия, дефицит факторов свертывания, ДВС-синдром и др.)

Кроме того, на наш взгляд, используемая частичная инактивация фактора XIII монохлоруксусной кислотой представляется не вполне обоснованной и стандартизованной.

Более прогрессивным подходом в совершенствовании этой группы методов было выделение и использование внешнего стабильного субстрата в качестве источника образования фибринового сгустка. Этот путь был избран группой Jasso в 1964 году, а в последующем М. А. Уманским и В. М. Берлинтом в 1972 году [200, 201]. Оба этих метода предусматривают полуколичественное определение активности фактора XIII, основанное на оценке лизиса фибринового сгустка сформированного в разных разведениях исследуемой плазмы из очищенного от фактора XIII человеческого или бычьего фибриногена. Искомым в этих методах является то наибольшее разведение плазмы, в котором сгусток еще не лизируется из-за достаточного уровня в нем фактора XIII.

На этой основе фирмой Boehringer Mannheim был создан и успешно апробирован

диагностический набор реагентов Factor XIII.

Получение фибриногена, очищенного от следов фактора XIII, как известно, представляет сложную задачу [202, 203], такие препараты дорогостоящи, что потенциально ограничивает их использование в клинической практике. В лаборатории гемостаза ЦНИЛ Алтайского государственного медицинского университета получен фибринмономер, способный быть субстратом для фактора XIII, и в то же время легко изготавливаемый в чистом виде без примесей фактора XIII. На этой основе был разработан новый метод определения активности фактора XIII с использованием стабильного препарата фибрин-мономера — дез-ААВВ-фибрин (заявка на патент № 2001121101 приоритет от 26.07.2001), описание которого приведено ниже.

Принцип

Субстратом для фактора XIIIa служит сгусток фибрина, получаемый в результате добавления к плазме фибрин-мономера. Определяют то наибольшее разведение исследуемой плазмы, в котором такой сгусток еще не лизировался под действием монохлоруксусной кислоты. Активность фактора XIII рассчитывают в % от нормы, сравнивая искомые разведения, полученные при исследовании контрольной нормальной плазмы и плазмы больного.

Реактивы и оборудование

1. Цитрат натрия, трехзамещенный, 3,8% раствор, получают растворением 3,8 г цитрата натрия в 100 мл дистиллированной воды.
2. Фибринмономер из плазмы крови человека (лиофильно высушенный), производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия.
3. Буфер трис-HCl 0,01 М, pH 7,3–7,4, с каолином (легкой фракции), в концентрации 1,0 мг/мл.
4. Хлорид кальция, 0,554% раствор.
5. Монохлоруксусная кислота, 5% раствор.
6. Центрифуга ОПН-8.
7. Термостат для исследования гемокоагуляции (ТПС).
8. Секундомер.
9. Пробирки стеклянные, объемом 20 мл.
10. Цилиндр стеклянный мерный, на 100 мл.
11. Осветитель для микроскопа ОИ-32.

Получение анализируемых образцов плазмы

Кровь для исследования забирают из локтевой вены в пластиковую или силиконизированную пробирку, содержащую 3,8% раствор натрия лимоннокислого 3-замещенного (цитрата натрия),

соотношение объемов крови и цитрата натрия — 9:1. Кровь центрифугируют при 3 000–4 000 об/мин (1 200 g) в течение 15 мин. В результате получают бедную тромбоцитами плазму, которую переносят в другую пробирку, где хранят до проведения исследования.

Центрифугирование должно проводиться непосредственно после взятия крови, а отбор плазмы на исследование — сразу же после центрифугирования. Не допускается анализ плазмы, имеющей сгустки, гемолиз и полученной более 2 ч назад. Допускается замораживание образцов плазмы при температуре $-16...-20^{\circ}\text{C}$ на срок до 1 месяца.

Ход определения

Приготовление серии разведений плазмы (бедной тромбоцитами контрольной нормальной плазмы или плазмы больного).

Используют ряд из 11 пробирок, которые нумеруют. Затем в пробирки под № 1–5, 7, 9 и 11 вносят по 1,0 мл дистиллированной воды. Пробирки под № 6, 8 и 10 остаются пустыми для приготовления промежуточных (дополнительных) разведений. Разведение плазмы производят в соответствии с таблицей.

Получение сгустка фибрина в разведениях

плазмы и оценка его лизиса.

Исследуют следующие разведения плазмы: 1:32; 1:48; 1:64; 1:96; 1:128. В каждую из 5 чистых пробирок последовательно вносят по 0,1 мл раствора хлористого кальция и 0,1 мл буфера с каолином. Затем в каждую из пробирок вносят по 0,2 мл разведенной плазмы — в первую пробирку — разведение 1:32, во вторую — 1:48, в третью — 1:64, в четвертую — 1:96 и в пятую — 1:128. Затем в каждую из пробирок добавляют по 0,1 мл раствора фибрин-мономера.

Включают секундомер, и полученные смеси инкубируют на водяной бане при $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 20 минут. По истечении времени инкубации пробирки достают из водяной бани, добавляют в каждую по 0,5 мл 5% раствора монохлоруксусной кислоты и выдерживают их при комнатной температуре ($+18...+25^{\circ}\text{C}$) в течение 3 мин.

В проходящем свете, наклоняя пробирку, определяют, произошло ли растворение сгустка фибрина. Лизис сгустка отмечают знаком «+», отсутствие лизиса (имеется сгусток или нити фибрина) — знаком «–». Искомым является то наибольшее разведение плазмы, в котором отсутствует лизис сгустка.

Таблица

Последовательность приготовления разведений

Номер пробирки	Производимое действие	Степень разведения плазмы
1	Вносят 1,0 мл плазмы;	1:2
2	1,0 мл смеси из 1-й пробирки переносят во вторую пробирку, перемешивают, встряхиванием	1:4
3	1,0 мл смеси из 2-й пробирки переносят в третью пробирку, перемешивают	1:8
4	1,0 мл смеси из 3-й пробирки переносят в четвертую пробирку, перемешивают	1:16
5	1,0 мл смеси из 4-й пробирки переносят в пятую пробирку, перемешивают	1:32
7	1,0 мл смеси из 5-й пробирки переносят в седьмую пробирку, перемешивают	1:64
9	1,0 мл смеси из 7-й пробирки переносят в девятую пробирку, перемешивают	1:128
11	1,0 мл смеси из 9-й пробирки переносят в одиннадцатую пробирку, перемешивают	1:256

Дополнительные (промежуточные) разведения

6	Вносят по 0,2 мл смеси из 7-й и 5-й пробирок, перемешивают	1:48
8	Вносят по 0,2 мл смеси из 9-й и 7-й пробирок, перемешивают	1:96
10	Вносят по 0,2 мл смеси из 11-й и 9-й пробирок, перемешивают	1:192

Оценка результатов. Расчет активности фактора XIII производят по формуле:

$$\text{Активность фактора XIII, \%} = \frac{\text{Разведение}_{\text{контроль}}}{\text{Разведение}_{\text{опыт}}} \times 100\%$$

где: Разведение_{контроль} — наибольшее разведение нормальной контрольной плазмы, в котором нет лизиса,

Разведение_{опыт} — наибольшее разведение исследуемого образца плазмы, в котором нет лизиса.

Пример: Разведение_{контроль} = 1:64, Разведение_{опыт} = 1:8. Активность фактор XIIIa = $8/64 \times 100\% = 12\%$.

Нижний предел чувствительности метода равен 1,5%. Измеряемый диапазон активности фактора XIII в плазме крови составляет от 1,5 до 400%.

По результатам обследования 110 практически здоровых людей нормальные показатели активности фактора XIII ($X \pm 2\sigma$) составили 74 — 124% ($X=99,1\%$; $\sigma=12,4$; $m=1,24$), что соответствует искомому разведению плазмы — 1:64.

3. Изменения количественного содержания фактора XIII в плазме крови человека

Современный уровень знаний о роли фактора XIII в формировании патологии гемостаза пока недостаточен и непрерывно пополняется. Давно известно о геморрагическом диатезе, связанном с наследственным глубоким дефицитом фактора XIII, который вызван генетическими аномалиями составляющих его субъединиц [204–207]. На этом фоне значение приобретенного умеренного дефицита фибринстабилизирующего фактора (20–60%) в патогенезе кровоточивости остается мало изученным, в т. ч. и при сочетании с другими причинами, обуславливающими эти расстройства [208–210]. С другой стороны, сообщения о роли повышенной активности фактора XIII в развитии тромбофилического состояния единичны и противоречивы [166, 211–213]. В настоящем разделе обзора приведен анализ сообщений, посвященных всем этим вопросам.

3.1. Виды патологии, протекающие с дефицитом фактора XIII

Роль фибринстабилизирующего фактора в развитии нарушений свертывания крови стала очевидна, когда Duckert в 1960 году впервые выявил двух братьев с тяжелым геморрагическим синдромом, у которых фибриновый сгусток растворялся в мочеvine, в то время как аналогичный сгусток, полученный в плазме здорового человека, оставался стабильным (2). Выделяют первичное снижение концентрации фактора XIII, которое наблюдается при врожденных генетически обусловленных аномалиях его субъединиц [214–216] и вторичное, встречающееся при ряде фоновых заболеваний, включая ДВС-синдром, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, геморрагический микротромбоваскулит, злокачественные новообразования и другие виды патологии [217–224].

3.1.1. Наследственный дефицит фактора XIII

Первичный дефицит фактора XIII представляет собой редкое аутосомно-рецессивное заболевание с примерной частотой 1 случай на 2 000 000–5 000 000 [14, 194]. Причиной врожденного дефицита фактора XIII являются одиночные или множественные мутации генов, кодирующих субъединицу XIIIa и XIIIb [225–227].

Классификация наследственного дефицита фактора XIII

Первоначально наследственный дефицит фактора XIII подразделяли на два типа: тип I, для которого характерно отсутствие обеих субъединиц фактора XIII (XIIIa и XIIIb); тип II, характеризующийся отсутствием только субъединицы A (XIIIa) фактора XIII [167]. В дальнейшем по результатам генетического анализа рядом исследователей было выявлено, что наблюдаемое при типе I снижение обеих субъединиц развивается в результате генетических дефектов субъединицы B (XIIIb), а субъединица A (XIIIa) снижается уже вторично из-за отсутствия достаточного количества защищающей ее субъединицы B. При этом в тромбоцитах субъединица A присутствует в нормальных количествах [168, 228]. С учетом этих данных в 1999 году Комитетом по научным исследованиям и стандартизации Интернационального общества по тромбозам и ге-

мостазу (ISTH) была принята новая уточненная генетическая классификация наследственного дефицита фактора XIII: 1) дефицит субъединицы А (ранее известный как тип II); 2) дефицит субъединицы В (прежде — тип I) и возможный; 3) комбинированный дефицит обеих субъединиц [168, 194].

Из перечисленных форм генетического дефекта наиболее наиболее часто встречаемым является дефицит субъединицы А. С 1960 по 1996 год было описано около 20 различных мутаций гена субъединицы А, приводящих к ее снижению [207, 229–232]. В результате таких мутаций меняется конформация молекулы, она становится нестабильной и более подверженной разрушающему действию протеолитических ферментов крови [214, 215, 233].

Мутации гена субъединицы В встречаются гораздо реже. За период с 1960 по 2001 год было выявлено всего несколько случаев дефицита субъединицы В (3 случая в Японии и 2 семьи — в Италии) [167, 194, 228, 234–237]. Важно отметить, что не только гомозиготное, но и гетерозиготное носительство мутаций приводит к дефициту и снижению активности фактора XIII, что может вызывать кровотечения [207, 238–240].

Клинические проявления дефицита фактора XIII

В настоящее время выявлено уже более 200 больных с наследственным дефицитом фактора XIII, клиническая картина которого обусловлена смешанным, микроциркуляторно-гематомным типом кровоточивости [14, 162, 194]. Наиболее ранним и характерным признаком этого заболевания является медленное заживление пупочной ранки у новорожденных и кровотечение из нее в первые недели жизни [241–244]. Этот симптом выявляется почти во всех случаях заболевания [245–248]. В 71% случаев первичного дефицита наблюдается повышенная склонность к формированию рецидивирующих синяков, подкожных и межмышечных гематом, которые могут возникнуть после небольших травм [249, 250]. Одной из главных причин смерти и инвалидизации этих больных являются кровоизлияния в мозг и его оболочки, которые встречаются, по данным разных авторов, в 18–25% случаев и характеризуются рецидивирующим течением, начиная с детского возраста [162, 195, 241, 242,

248–250]. Для дефицита фактора XIII характерны также так называемые «поздние» или «отсроченные» кровотечения, которые возникают через 12–72 часа после травмы или операции (удаление зуба, ушиб, порезы, хирургические вмешательства). Такие кровотечения связаны с меньшей резистентностью сформированного тромба к тромболизису [163, 243, 251]. Описаны также гемартрозы крупных суставов, кровоизлияния в брюшную полость и забрюшинное пространство, желудочно-кишечные кровотечения и макрогематурия, но они встречаются более редко и, как правило, спровоцированы травмой [252].

Первичный дефицит фактора XIII и плохое заживление ран

Представление о том, что фактор XIII участвует в процессах репарации, основано на первом наблюдении Duckert et al. нарушения заживления ран у больного с наследственным дефицитом фактора XIII [2]. В дальнейших работах показано, что лишь у 15–18% больных этим геморрагическим диатезом выявляется данный симптом [194, 249, 254, 255]. При проведении исследований в период с 1993 по 1996 годы в Европе было выявлено 72 человека с наследственным дефицитом фактора XIII. Из них проблемы с заживлением ран наблюдались только в 26 (36%) случаях [195]. Muszbek et al. предположили существование еще каких-то нераспознанных пока дефектов механизма заживления ран, которые становятся очевидными при дефиците фактора XIII (1). Успех лечебного применения концентрата фактора XIII подтверждает участие этого фактора в процессах заживления ран и тканевой репарации [255–258]. Замечено, что местное применение фактора XIII для лечения язв на ногах при варикозной болезни и сахарном диабете значительно улучшало тенденцию их заживления и уменьшало отечность [259–262]. Был описан случай заживления длительно существующих и рецидивирующих пролежней при парентеральном введении концентрата фактора XIII [258]. Между тем отметим, что наружное применение криопреципитата, активность фактора XIII в котором составляет 200–500%, для лечения трофических язв в клинике Алтайского гематологического центра не прижилось в виду выраженной болезненности процедуры. Курсовое лечение большими дозами концентрата человеческого

плацентарного фактора XIII имело положительный эффект для заживления переломов костей как у животных, так и у людей [263, 264].

Первичный дефицит фактора XIII и невынашивание беременности

Имеются данные, что женщины, страдающие наследственным дефицитом фактора XIII, не способны вынашивать беременность, выкидыши происходят на ранних сроках (5–10 недель беременности), и для успешного вынашивания необходимо постоянное профилактическое введение концентрата фактора XIII, начиная с 5-й недели гестации [254, 265–268]. Вместе с тем имеются публикации, согласно которым привычное невынашивание наблюдается не во всех случаях дефицита фактора XIII [195, 269]. В проведенном в 1996 году исследовании ETRO в Европе из 30 женщин фертильного возраста с наследственным дефицитом фактора XIII лишь у 7 (23%) наблюдались выкидыши [195].

Ключом к пониманию этой проблемы могут служить единичные пока работы, направленные на изучение процесса плацентации, и участие в нем внутриклеточной формы фактора XIII (XIII_{A2}), которая была обнаружена в материнской части плаценты и макрофагах матки здоровых женщин [31, 270]. Начиная с 5-й недели нормальной беременности в мезенхиме хориона появляются моноциты крови, содержащие внутриклеточный фактор XIII_{A2}, а к 7-й неделе их количество достигает 30% всех мезенхимальных клеток хориона. В это время моноциты дифференцируются, превращаются в вакуолизированные макрофаги, а с 8-й недели начинают распределяться по периферии хориона, в то время как в центре происходит интенсивное формирование фиброзной ткани [36].

Все эти данные, а также отсутствие субъединицы A фактора XIII в макрофагах при гомозиготном наследственном его дефиците, позволяет предположить возможное участие внутриклеточной формы фактора XIII в успешном протекании беременности [271]. Однако тот факт, что введение концентрата фактора XIII таким женщинам, т. е. поддержание плазменного пула этого фактора, предотвращает выкидыши, не поддерживает это предположение. Таким образом, роль фактора XIII (как плазменной, так и внутриклеточной его формы) в поддержании

беременности остается недостаточно изученной и требует дальнейших исследований.

3.1.2. Приобретенный дефицит фактора XIII

Приобретенный дефицит фибринстабилизирующего фактора встречается чаще, чем наследственный, и определяется большинством исследователей как один из важных факторов, способствующих развитию геморрагического синдрома [209–211, 169–171, 272–275]. Следует отметить, что при большинстве вариантов вторичного дефицита фибринстабилизирующего фактора у больных наблюдается умеренное, в сравнении с наследственным дефицитом, снижение его активности (в диапазоне от 20 до 70% от нормы).

Достаточно большое количество встречающихся работ в этой области посвящено изучению снижения фактора XIII при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, в т.ч. инфекционных колитах, неспецифическом язвенном колите и болезни Крона [171, 210, 217, 276–282]. Степень этого снижения коррелирует с выраженностью воспалительного процесса и активацией системы свертывания крови [239, 277–280]. Причем наибольшее его снижение (до 20–40% от нормы) наблюдалось у таких больных с осложнениями в виде кишечного кровотечения [210, 217]. Некоторые авторы отмечают прямую связь снижения фактора XIII с протяженностью зоны поражения кишечника [217, 278, 281]. Имеются работы, подтверждающие, что парентеральное введение концентрата фактора XIII способствует выздоровлению и восстановлению кишечного эпителия при данных заболеваниях [282–287], даже в резистентных к традиционной терапии случаях [277, 288].

Ряд публикаций посвящен изучению роли фактора XIII в формировании геморрагического синдрома при различных видах внутрисосудистого свертывания крови, встречающихся при геморрагическом микротромбоваскулите [218, 273, 282, 289–292], онкологических заболеваниях [223, 293–313], острых венозных тромбозах [318], верифицированном ДВС-синдроме [220–222, 275, 315–317], состояниях после операции или травмы [168–170, 220, 274, 275, 314] и при некоторых других видах патологии [319–322].

К особому варианту вторичного дефицита фактора XIII относятся описанные в литературе

случаи наличия иммунного ингибитора субъединицы А, относящегося к классу Ig G [208, 323–331].

К экзотическому варианту приобретенного дефицита фибринстабилизирующего фактора относят геморрагический диатез, вызванный укусом змеи *Lonomia achelous caterpillars*, обитающий в Южной Америке. Впервые его описал Arocha-Pinango в 1967 году [332]. Клиническая картина последствий укуса оказалась весьма схожей с проявлениями, характерными для наследственного дефицита фактора XIII. В частности, у больных наблюдалась выраженная кровоточивость из кожи и слизистых оболочек, макрогематурия, мелена, внутричерепные кровоизлияния. При патанатомическом вскрытии укушенных обнаруживались массивные внутричерепные гематомы, кровоизлияния в брюшную и грудную полости. Такие клинические случаи были описаны в Венесуэле [333, 334], Бразилии [335] и Французской Гвинее [336]. При изучении механизма действия яда змеи *Lonomia achelous caterpillars* выяснилось, что наряду с умеренным снижением уровня фибриногена, плазминогена, при нормальном количестве тромбоцитов, нормальном АПТВ, протромбиновом и тромбиновом тестах, наблюдалось резкое снижение активности фактора XIII в плазме крови, причем как субъединицы А, так и В, хотя последняя оказалась более устойчивой к действию яда [69]. Хроматографически очищенная из этого яда фракция FIID, которая обладала способностью специфически ингибировать фактор XIII, получила название Lonomin V. В экспериментах *in vitro* показано, что Lonomin V вызывает дозозависимое снижение активности очищенного фактора XIII, что подтверждает его непосредственное действие на данный фактор [70]. Причем разрушается как профермент, так и его активированная форма. Выяснилось, что снижение активности фактора XIII было более выражено в тромбоцитах, чем в плазме крови, что связано с отсутствием защитной субъединицы В в тромбоцитарной форме фактора XIII ($XIII A_2$), и имеющаяся в тромбоцитах субъединица А больше подвержена действию этой сериновой протеазы [337]. Прямое ингибирование транскламиназной активности фактора XIII приводит к нарушению поперечного связывания фибрина, что может ускорять лизис тромба, уменьшать

его рост и предотвращать ретромбозы [338, 339]. На модели тромбоза яремной вены у кроликов было проведено исследование по оценке лизиса тромба, с помощью очищенной фракции яда – Lonomin V, в сравнении с тканевым активатором плазминогена (ТПА) и урокиназой. Показано, что Lonomin V способствует дозозависимому тромболизису, адекватному степени снижения активности фактора XIII. Причем Lonomin V индуцировал слабый лизис по сравнению с ТПА, но значительно более сильный по сравнению с урокиназой. При сравнении тромболитического эффекта препаратов Lonomin V и ТПА, применяемых отдельно и вместе (Lonomin V+ТПА), наибольший тромболизис наблюдался при сочетании Lonomin V с ТПА, при этом также значительно уменьшалось присоединение фибрина к тромбу, что расценивалось как возможность снижения риска ретромбозов при проведении тромболитической терапии.

3.1.3. Коррекция дефицита фактора XIII

Для лечения как наследственного, так и приобретенного дефицита фибринстабилизирующего фактора рекомендовано использовать препараты свежезамороженной плазмы, криопреципитата и концентратов фактора XIII [265, 266, 294, 340–343]. В последние годы более перспективным представляется применение концентратов фактора XIII [342, 343]. Существует два вирус-инактивированных препарата концентрата фактора XIII, полученного из плазмы крови человека [344]. Первый из них, Fibrogammin P (Centeon LLC, Королевство Пруссии, РА, США; и Centeon Pharma GmbH, Марбург, Германия), распространяется на территории Европы, Америки, Южной Африки, Японии. Другой концентрат фактора XIII (Bio Products Laboratory, Elstree, UK) доступен только в Великобритании. Для лечения больных применяется также концентрат фактора XIII, полученный из плаценты человека [237, 345]. Сравнительное исследование концентратов фактора XIII из плазмы крови и плаценты не выявило между ними больших различий в периоде полужизни антигена (около 8–9 дней) и активности фактора XIII в крови пациентов [346]. Оба препарата показали высокую эффективность для заместительной терапии. Рекомендуемая доза для профилактики геморрагических эпизодов у больных с наслед-

ственным дефицитом фактора XIII при этом составляет в среднем 30 ед/кг/месяц [347].

Препарат последнего поколения — рекомбинантный фактор XIII (rFXIII) — пока еще не получил широкого распространения, но при его изучении и сравнении с концентратами фактора XIII были получены хорошие результаты [346, 257, 348–350].

Ряд авторов рекомендуют проводить заместительную терапию при приобретенном дефиците фактора XIII [170, 238, 287, 302, 341]. Нам встретилось большое число положительных примеров эффективного использования концентрата фактора XIII для лечения кровоточивости и заболеваний, протекающих с нарушением репарации тканей (послеоперационные кровотечения, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона и другие). Ссылки на эти работы приведены в разделе 3.1.2.

3.2. К УЧАСТИЮ ПОВЫШЕННОЙ АКТИВНОСТИ ФАКТОРА XIII В РАЗВИТИИ ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Как известно, к тромбофилиям относят те нарушения гемостаза, при которых имеется предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов. Учитывая то, что тромбозы сосудов, инфаркты и ишемии органов занимают одно из ведущих мест среди причин смертности и инвалидизации больных, изучение вопросов этиологии, диагностики и лечения этих состояний находится в центре внимания специалистов [282, 351–355].

В настоящее время общепринята классификация основных видов гематогенных тромбофилий (З. С. Баркаган, 1996–2001), среди которых к числу часто встречаемых относят гемореологические формы, резистентность фактора Va к активированному протеину C, гипергомоцистеинемию, антифосфолипидный синдром и ряд других нарушений. Из них к наиболее тромбогенным относят так называемые комбинированные формы, при которых склонность к тромбозам обусловлена сочетанием двух и более причин. При этих формах тромбозы, как известно, возникают в более раннем возрасте и с более высокой частотой [352–356].

Отметим, что к одним из патогенетических механизмов развития тромбофилических состо-

яний относятся нарушения, связанные с дефектом лизиса фибринового сгустка. Последний, как известно, встречается при нарушениях в системе фибринолиза, чаще всего при дефиците тканевого активатора плазминогена (ТПА), избыточном содержании PAI-1 и PAI-2, дефиците или аномалиях плазминогена, а также при некоторых тромбогенных дисфибриногенемиях, при которых сгусток имеет повышенную резистентность к лизису плазмином. Имеются отдельные сообщения, свидетельствующие о возможной роли в этом сверхстабилизации фибрина при повышении уровня и активности фактора XIII. Так, в 2001 Franz et al. показали, что сгусток фибрина, сформированный при высоком уровне фактора XIII, значительно хуже лизируется плазмином, причем этот эффект напрямую зависит от активности фактора XIII [136]. И наоборот, при экспериментальном ингибировании фактора XIIIа степень лизиса сгустка значительно возростала [135, 156, 338, 339].

Таким образом, повышение активности фактора XIIIа, по-видимому, может играть существенную роль в регуляции фибринолиза, поддерживая тем самым процесс тромбообразования.

В последние годы большой интерес у исследователей вызывает недавно обнаруженный полиморфизм гена F13A1, приводящий к замене аминокислоты Val на Leu в положении 34 субъединицы A фактора XIII, рядом с местом протеолитической активации фактора [357]. Этот полиморфизм достаточно широко распространен в популяции (0,27 в популяции Australian Caucasian) и исследуется в настоящее время в качестве потенциального фактора, участвующего в формировании тромбозов [173, 211, 357]. Этим, отчасти, может объясняться и высокий верхний предел, и широкие границы нормы (66–134%), соответствующие активности фактора XIII [173]. В работах, посвященных этому вопросу, установлено, что гомозиготные мутации приводят к значительному повышению уровня активности фактора XIII [173, 358–361]. При генотипе Leu34Leu активность фактора XIII была на 60% выше, чем при генотипе Val34Val [358]. Однако в ряде исследований было показано, что генотип 34Leu, способствующий повышению активности фактора XIII, непонятным образом защищает организм человека от венозных

тромбозов, ТЭЛА, ишемического инсульта и инфаркта миокарда [213, 362–369]. Другие авторы не обнаружили такого защитного эффекта при данной мутации [166, 370–374].

Таким образом, роль фактора XIII в форми-

ровании тромбозов, тромбофилий и их осложнений изучена пока недостаточно. Сообщения на эту тему представляются противоречивыми, что подчеркивает важность и актуальность выполнения работ в данном направлении.

Список литературы

1. Muszbek L., Yee V., Hevessy Z. // *Thromb. Res.* – 1999. – V.94. – P. 271–305.
2. Duckert F., Jung E., Shmerling D. // *Thrombos. Diath. Haemorrh.* – 1960. – V.5. – P. 179–186.
3. Barkan G., Gaspar A. // *Biochem Ztschr.* – 1923. – V.139. – P. 291–301.
4. Robbins K. C. // *Am. J. Physiol.* – 1944. – V.142. – P. 581–588.
5. Laki K., Lorand L. // *Science.* – 1948. – V.108. – P. 280.
6. Lorand L. // *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* – 1948. – P. 192–196.
7. Lorand L. // *Nature.* – 1950. – V.166. – P. 694–696.
8. Loewy A., Veneziale C., Forman M. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1957. – V.26. – P. 670–671.
9. Loewy A., Dunathan K., Kriel K., Wolfinger J. *Fibrinase I.* // *J. Biol. Chem.* – 1961. – V.236. – P. 2625–2633.
10. Loewy A., Dahlberg A., Dunathan K., Kriel K., Wolfinger J. // *J. Biol. Chem.* – 1961. – V.236. – P. 2634–2643.
11. Loewy AG, Dunathan K, Gallant JA, Gardner B. // *J. Biol. Chem.* – 1961. – V.236. – P. 2644–2647.
12. Loewy AG, Gallant JA, Dunathan K. // *J. Biol. Chem.* – 1961. – V.236. – P. 2648–2655.
13. Lorand L., Conrad S. // *Mol. Cell. Biochem.* – 1984. – V.58. – P. 9–35.
14. Зубаиров Д. М. / Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. – Казань, Фэн, 2000. — 367с.
15. Carrell N. A., Erickson H. P., McDonagh J. // *J. Biol. Chem.* – 1989. – V.264. – P. 551–556.
16. Mary A., Achyuthan K., Greenberg C. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1988. – V.966. – P. 328–335.
17. Polgar J., Hidasi V., Muszbek L. // *Biochem. J.* – 1990. – V.267. – P. 557–560.
18. Radek J., Jeong J., Wilson J., Lorand L. // *Biochemistry.* – 1993. – 32. – P. 3527–3534.
19. Yorifuji H., Anderson K., Lynch G., Van de Water L., McDonagh J. // *Blood.* – 1988. – V.72. – P. 1645–1650.
20. Greenberg C. S., Shuman M. A. // *J. Biol. Chem.* – 1982. – V.257. – P. 6096–6101.
21. Greenberg C. S., Dobson J. V., Miraglia C. C. // *Blood.* – 1985. – V.66. – P. 1028–1034.
22. Mary A., Achyuthan K., Greenberg C. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1987. – V.147. – P. 608–614.
23. Siebenlist K. R., Meh D. A., Mosesson M. W. // *Biochemistry.* – 1996. – V.35. – P. 10448–10453.
24. Buluk K. An unknown function of blood platelets. // *Pol Tyg Lek.* – 1955. – V.10. – P. 191.
25. Luscher E. F. // *Schweiz. Med. Wochensch.* – 1957. – V.87. – P. 1220–1221.
26. Bohn H. // *Thromb. Diath. Haemorrh.* – 1970. – V.23. – P. 455–468.
27. Kiesselbach T. H., Wagner R. H. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1972. – V.202. – P. 318–328.
28. Adany R., Kiss A., Muszbek L. // *Br. J. Haematol.* – 1987. – V. 67. – P. 167–172.
29. Muszbek L., Adany R., Szegedi G., Polgar J., Kawai M. // *Thromb. Res.* – 1985. – V.37. – P. 401–410.
30. Henriksson P., Becker S., Lynch G., McDonagh J. // *J. Clin. Invest.* – 1985. – V.76. – P. 528–534.
31. Adany R., Glukhova M., Kabakov A., Muszbek L. // *J. Clin. Pathol.* – 1988. – V.41. – P. 49–56.
32. Cerio R., Griffiths C. E., Cooper K. D., Nickoloff B. J., Headington J. T. // *Br. J. Dermatol.* – 1989. – V.121. – P. 421–431.
33. Nurminskaya M., Magee C., Nurminsky D., Linsenmayer T. // *J. Cell Biol.* – 1998. – V.142. – P. 1135–1144.
34. Fear J., Jackson P., Gray C., Miloszewski K., Losowsky M. // *J. Clin. Pathol.* – 1984. – V.37. – P. 560–563.
35. Derrick E. K., Barker J. N., Khan A., Price M. L., McDonald D. M. // *Histopathology.* – 1993. – V.22. – P. 157–162.
36. Kappelmayer J., Bacsko G., Kelemen E., Adany R. // *Placenta.* – 1994. – V.15. – P. 613–623.
37. Kaczmarek E., Liu Y., Berse B., Chen C., McDonagh J. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1995. – V.1247. –

- №1. – P. 127-134.
38. Adany R. // *Sem Thromb Hemost.* – 1996. – V.22. – P. 399–408.
 39. Sixma J., van den Berg A., Schiphorst M., Geuze H. J., McDonagh J. // *Thromb. Haemost.* – 1984. – V.51. – P. 388–391.
 40. Lopaciuk S., Lovette K., McDonagh J., Chuang H., McDonagh R. // *Thromb. Res.* – 1974. – V.8. – P. 453–465.
 41. Broekman M. J., Handin R. J., Cohen P. // *Br. J. Haematol.* – 1975. – V.31. – P. 51–55.
 42. Marx G., Korner G., Mou X., Gorodetsky R. // *J. Cell. Physiol.* – 1993. – V.156. – P. 437–442.
 43. Weisberg L. J., Shiu D. T., Conkling P. R., Shuman M. A. // *Blood.* – 1987. – V.70. – P. 579–582.
 44. Kradin R., Lynch G., Kurnick J., Erikson M., Colvin R., McDonagh J. // *Blood.* – 1987. – V.69. – P. 778–785.
 45. Board P., Webb G., McKee J., Ichinose A. // *Cytogenet. Cell Genet.* – 1988. – V.48. – P. 25–27.
 46. Webb G., Coggan M., Ichinose A., Board P. // *Hum. Genet.* – 1989. – V.81. – P. 157–160.
 47. Wolpl A., Lattke H., Board P., Arnold A., Schmeiser T., Kubanek B., Robin-Winn M., Pichel-mayr R., Goldmann S. // *Transplantation.* – 1987. – V.43. – P. 151–153.
 48. Poon M., Russel J., Low S., Sinclair G., Jones A., Blahey W., Ruether B., Hoar D. // *J. Clin. Invest.* – 1989. – V.84. – P. 787–792.
 49. Trimble C. L., Gray M. H., McNutt N. S. // *Virchows. Archiv. A. Pathol. Anat.* – 1992. – V.420. – P. 513–518.
 50. Nagy J., Henriksson P., McDonagh J. // *Blood.* – 1986. – V.68. – P. 1272–1279.
 51. Kaetsu H., Hashiguchi T., Foster D., Ichinose A. // *J. Biochem.* – 1996. – V.119. – P. 961–969.
 52. Lorand L. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1986. – V.485. – P. 144–158.
 53. Muszbek L., Laki K. / *The Thrombin.* / Ed. Machovich R. - Boca Raton: CRC Press. - 1984. - P. 83–102.
 54. Yee V. C., Pedersen L. C., Bishop P. D., Stenkamp R. E., Teller D. C. // *Thromb. Res.* – 1995. – V.78. – P. 389–397.
 55. Curtis C. G., Brown K. L., Credo R. B., Domanik R. A., Gray P., Stenberg P., Lorand L. // *Biochemistry.* – 1974. – V.13. – P. 3774–3780.
 56. Hornyak T. J., Shafer J. A. // *Biochemistry.* – 1991. – V.30. – P. 6175–6182.
 57. Naski M., Lorand L., Shafer J. // *Biochemistry.* – 1991. – V.30. – P. 934–941.
 58. Janus T., Lewis S., Lorand L., Shafer J. // *Biochemistry.* – 1983. – V.22. – P. 6269–6272.
 59. Lewis S., Janus T., Lorand L., Shafer J. // *Biochemistry.* – 1985. – V.24. – P. 6772–6777.
 60. Greenberg C. S., Miraglia C. C. // *Blood.* – 1985. – V.66. – P. 466–469.
 61. Credo R. B., Curtis C. G., Lorand L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1978. – V.75. – P. 675–682.
 62. De Backer-Royer C., Traore F., Meunier J. // *Int. J. Biochem.* – 1992. – V.24. – P. 91–97.
 63. Lorand L., Credo R., Janus T. // *Meth. Enzymol.* – 1981. – V.80. – P. 333–341.
 64. Muszbek L., Polgar J., Boda Z. // *Thromb. Haemost.* – 1993. – V.69. P. 282–285.
 65. Muszbek L., Haramura G., Polgar J. // *Thromb. Haemost.* – 1995. – V.73. – P. 702–705.
 66. Parameswaran K., Velasco P., Wilson J., Lorand L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – V.87. – P. 8472–8475.
 67. Polgar J., Lerant I., Muszbek L., Machovich R. // *Thromb. Res.* – 1986. – V.43. – P. 585–590.
 68. Catani M. V., Bernassola F., Rossi A., Melino G. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998. – V.249. – P. 275–278.
 69. Guerrero B., Arocha-Pinango C., Gil A. // *Thromb. Res.* – 1997. – V.87. – P. 83–93.
 70. Guerrero B., Arocha-Pinango C., Gil S. // *Thromb. Res.* – 1997. – V.87. – P. 171–181.
 71. Shainoff J. R., Urbanic D. A., DiBello P. M. // *J. Biol. Chem.* – 1991. – V.266. – P. 6429–6437.
 72. Ly B., Kierulf P., Jakobsen E. // *Thromb. Res.* – 1974. – V.4. – P. 509–522.
 73. Kanaide D., Shainoff J. // *J. Lab. Clin. Med.* – 1975. – V.85. – P. 574–597.
 74. Blomback B., Procyk R., Adamson L., Hessel B. // *Thromb. Res.* – 1985. – V.37. P. 613–628.
 75. Fowler W., Erickson H., Hantgan R., McDonagh J., Hermans J. // *Science.* – 1981. – V.211. – P. 287–289.
 76. Siebenlist K. R., Meh D. A., Mosesson M. W. // *Thromb. Haemost.* – 2001(suppl). - abst.: OC2482.
 77. Mosesson M. W. // *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* – 1992. – V.34. – P. 11–16.
 78. Mosesson M. W. // *Blood Coag. Fibrinolysis.* – 1997. – P. 257–267.
 79. Weisel J. W., Francis C. W., Nagaswami Marder V. J. // *J. Biol. Chem.* – 1993. – V.268. – P. 26618–26624.
 80. Mosesson M. W., Siebenlist K. R., Amrani D. L., DiOrio J. P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1989. – V.86. – P. 1113–1117.

81. Lorand L. // *Thromb. Diath. Haemorrh.* – 1970. – V.39 (Suppl.). – P. 75-102.
82. Dardik B. N., Shainoff J. R. // *Thrombos. Haemostas.* – 1979. – V.42. – P. 864-872.
83. Sakata Y., Aoki N. // *J. Clin. Invest.* – 1980. – V.65. – P. 290-297.
84. Ichinose A., Aoki N. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1982. – V.706. – P. 158-164.
85. Tamaki T., Aoki N. // *J. Biol. Chem.* – 1982. – V.257. – P. 14767-14772.
86. Hevessy Z., Harsfalvi J., Muszbek L. // *Thromb. Haemost.* – 1997(Suppl), ab. 33a.
87. Tamaki T., Aoki N. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1981. – V.661. – P. 280-286.
88. Kimura S., Aoki N. // *J. Biol. Chem.* – 1986. – V.261. – P. 15591-15595.
89. Mimuro J., Kimura S., Aoki N. // *J. Clin. Invest.* – 1986. – V.77. – P. 1006-1013.
90. Shafer J.A., Higgins D.L. // *C. R.C. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 1988. – V.26. – P. 1-41.
91. Blomback B. // *Thromb Res.* – 1996. – V.83. – P. 1-75.
92. Huh M., Schick B., Schick P., Colman R. // *Blood.* – 1988. – V.71. – P. 1693-1702.
93. Francis R., McDonagh J., Mann K. // *J. Biol. Chem.* – 1986. – V.261. – P. 9787-9792.
94. Wang D., Annamalai A., Ghosh S., Gewirtz A., Colman R. // *Thromb. Res.* – 1990. – V.57. – P. 39-57.
95. Jansen P., Lorand L., Ebbesen P., Gliemann J. // *Eur. J. Biochem.* – 1993. – V.214. – P. 141-146.
96. Bendixen E., Harpel P., Sottrup-Jensen L. // *J Biol Chem.* – 1995. – V.270. – P. 17929-17933.
97. Bendixen E., Borth W., Harpel P. // *J. Biol. Chem.* – 1993. – V.268. – P. 21962-21967.
98. Borth W., Chang V., Bishop P., Harpel P. // *J Biol. Chem.* – 1991. – V.266. – P. 18149-18153.
99. Romanic A. M., Arleth A. J., Willette RN, Ohlstein EH. // *Circ. Res.* 1998. – V.83. – P. 264-269.
100. Bockenstedt P., McDonagh J., Handin R. // *J Clin. Invest.* – 1986. – V.78. – P. 551-556.
101. Hada M., Kaminski M., Bockenstedt P., McDonagh J. // *Blood.* – 1986. – V.68. – P. 95-101.
102. Mosher D. F., Johnson R. B. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1983. – V.408. – P. 583-594.
103. Fesus L., Mestis M., Muszbek L., Koteliansky V. // *Eur. J. Biochem.* – 1986. – V.154. – P. 371-374.
104. Procyk R., Adamson L., Block M., Blomback B. // *Thromb. Res.* – 1985. – V.40. – P. 833-852.
105. Procyk R., Blomback B. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1988. – V.967. – P. 304-313.
106. Mosher D. F., Schad P. E., Kleinman H. K. // *J. Clin. Invest.* – 1979. – V.64. – P. 781-787.
107. Barry E., Mosher F. // *J Biol. Chem.* – 1988. – V.263. – P. 10464-10469.
108. Barry E. L., Mosher F. D. // *J Biol. Chem.* – 1989. – V.264. – P. 4179-4185.
109. Keski-Oja J., Mosher D., Vaheri A. // *Cell.* – 1976. – V.9. – P. 29-35.
110. Sane D. C., Moser T. L., Pippen A. M., Parker C. J., Achyuthan K. E., Greenberg C. S. // *Bio-chem. Biophys. Res. Commun.* – 1988. – V.157. – P. 115-120.
111. Skorstengaard K., Halkier T., Højrup P., Mosher D. // *F. E. B. S. Letts.* – 1990. – V.262. – P. 269-274.
112. Bale M. D., Westrick L. G., Mosher D. F. // *J Biol. Chem.* – 1985. – V.260. – P. 7502-7508.
113. Bale M. D., Mosher D. F. // *Biochemistry.* – 1986. – V.25. – P. 5667-5673.
114. Lynch G., Slayter H., Miller B., McDonagh J. // *J. Biol. Chem.* – 1987. – V.262. – P. 1772-1778.
115. Williams E. C., Janmey P. A., Johnson R. B., Mosher D. F. // *J. Biol. Chem.* – 1983. – V.258. – P. 6595-6601.
116. Okada M., Blomback B., Chang M., Horowitz B. // *J. Biol. Chem.* – 1985. – V.260. – P. 1811-1820.
117. Serrano K., Devine D. // *Thromb. Haemost.* – 2002. – V.88. – P. 315-320.
118. Cohen I., Blankenberg T.A., Borden D., Kahn D.R., Veis A. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1980. – V.628. – P. 365-375.
119. Cohen I., Young-Bandala L., Blankenberg T.A., Siefing G.E., Bruner-Lorand J. // *Arch. Bio-chem. Biophys.* – 1979. – V.192. – P. 100-111.
120. Hovath A., Asijee G.M., Muszbek L. // *Cell. Motil. Cytoskeleton.* – 1992. – V.21. – P. 123-131.
121. Asijee G., Muszbek L., Kappelmayer J., Polgar J., Horvath A., Sturk G. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1988. – V.954. – P. 303-308.
122. Folk J. E. // *Adv. Enzymol.* – 1983. – V.54. – P. 1-56.
123. Hirahara K., Shinbo K., Takahashi M., Matsuishi T. // *Thromb. Res.* – 1993. – V.71. – №2. – P. 139-148.
124. Marzano A., Federici A., Gasparini G., Mannucci P., Caputo R., Berti E. // *Eur. J. Dermatol.* – 2000. – V.10. – №1. – P. 14-17.
125. Noll T., Wozniak G., McCarson K., Hajimohammad A., Metzner H., Inserte J., Kummer W., Hehrlein F., Piper H. // *J. Exp. Med.* – 1999. – V.189. – №9. – P. 1373-1382.
126. Wozniak G., Noll T. // *Biomedical. Progress.* –

2000. – V.13.
127. Shen L., Hermans J., McDonagh J., McDonagh R., Carr M. // *Thromb. Res.* – 1975. – V.6. – P. 255–265.
 128. Gelman R., Gladner J., Nossal R. // *Biopolymers.* – 1980. – V.19. – P. 1259–1270.
 129. Shen L., Lorand L. // *J. Clin. Invest.* – 1983. – V.71. – P. 1336–1341.
 130. Gladner J., Nossal R. // *Thromb. Res.* – 1983. – V.30. – P. 273–288.
 131. Carr ME, Gabriel DA, McDonagh J. // *J Lab Clin Med.* – 1987. – V.110. – P. 747–752.
 132. Gormsen J., Fletcher A., Alkjaersig N., Sherry S. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1967. – V.120. – P. 654–665.
 133. Jansen J., Haverkate F., Koopman J., Nieuwenhuis H., Kluft C., Boschman T. // *Thrombos. Haemostas.* – 1987. – V.57. – P. 171–175.
 134. Leidy E. M., Stern A. M., Friedman P. A., Bush L. R. // *Thromb. Res.* – 1990. – V.59. – P. 15–26.
 135. Shebuski R. J., Sitko G. R., Claremon D. A., Baldwin J. J., Remy D. C., Stern A. M. // *Blood.* – 1990. – V.75. – P. 1455–1459.
 136. Franz R., Meintjes C., Joubert J., Briedenhann S., Becker P. // *Thromb. Haemost.* – 2001(suppl), ab.: CD3203
 137. Зубаиров Д. М. / Биохимия свертывания крови. – М., Медицина, 1978. – 175с.
 138. Feddersen C. // *Scan. J. Clin. and Lab. Invest.* – 1983. – V.43. – №166. – P. 1–60.
 139. Kierulf P., Brosstad F., Andersen A. // *Scan. J. Haematol.* – 1983(Suppl 39). – V. 30. – P. 97–102.
 140. Siebenlist K. R., Meh D. A., Wall J. S., Hainfeld J. F., Mosesson M. W. // *Thromb. Haemost.* – 1995. – V. 74 – P. 1113–1119.
 141. Siebenlist K. R., Mosesson M. W. // *Biochemistry.* – 1992. – V.31. – P. 936–941.
 142. Francis C. W., Marder V. J. // *Blood.* – 1988. – V.71. – 1361–1365.
 143. Francis C. W., Marder V. J. // *J. Clin. Invest.* – 1987. – V.80. – P. 1459–1465.
 144. Kamykowski G., Mosher D., Lorand L., Ferry J. // *Biophys. Chem.* – 1981. – V.13. – P. 25–28.
 145. Chou T. W., McIntire L. W., Petersen D. M. // *Thromb. Res.* – 1983. – V.29. – P. 243–248.
 146. Blomback B., Banerjee D., Carlsson K., Hamsten A., Hessel B., Procyk R., Silveira A., Za-charski L. / *Fibrinogen, Thrombosis, Coagulation and Fibrinolysis.* / Eds. Liu C., Chien S. - New York: Plenum Press. - 1990. – P. 1–23.
 147. Valnickova Z., Enghild J. // *J. Biol. Chem.* – 1998. – V.273. – P. 27220–27224.
 148. Puccetti L., Bruni F., Pasqui A. L., Pastorelli M., Bova G., Cercignani M., Palazzuoli A., Auteri A. // *Thromb. Haemost.* – 2001 (suppl). - abstract: P2026.
 149. Sakata Y., Aoki N. // *J. Clin. Invest.* – 1982. – V.69. – P. 536–542.
 150. Haverkate F. // *Thromb. Diath. Haemorrh.* – 1975. – V.34. – P. 584–585.
 151. Wozniak G., Noll T., Brunner U., Hehrlein F. // *Vasa.* – 1999. – V.28. - №3. – P. 160–163.
 152. Cohen I., Glaser T., Veis A., Brunner-Lorand J. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1981. – V. 676. – P. 137–147.
 153. Harsfalvi J., Fesus L., Tarcsa E., Laczkó J., Loewy A. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1991. – V.1073. – P. 268–274.
 154. Joist J., Niewiarowski S. // *Thromb. Haemost.* – 1973. – 29:679–683.
 155. Reed G., Matsueda G., Haber E. // *Thromb. Haemost.* – 1992. – V.68. – P. 315–320.
 156. Reed G. L., Hough A. K. // *Circulation.* – 1999. – V.99. - №2. – P. 299–304.
 157. Aoki N. // *Thromb. Haemost.* – 1993. – V.70. – P. 376.
 158. Hevessy Z., Haramura G., Boda Z., Udvardy M., Muszbek L. // *Thromb. Haemost.* – 1996. – V.75. – P. 161–167.
 159. Bobic-Dawes R., Ariens R., Carter A., Grant P. // *Thromb. Haemost.* – 2001(suppl), P1195.
 160. Greenberg C. S., Shuman M. A. // *J. Biol. Chem.* – 1984. – V.259. – P. 14721–14727.
 161. Cox A. D., Devine D. V. // *Blood.* – 1994. – V.83. – P. 1006–1016.
 162. Баркаган З. С. / Геморрагические заболевания и синдромы. – М., Медицина, 1988. — 528 с.
 163. Wiel E., Marciniak B., Wibaut B. // *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* – 1998. – V.17. - №1. – P. 61–64.
 164. Murdock P., Owens D., Chitolie A., Hutton R., Lee C. // *Thromb. Res.* – 1992. – V.67. - №1. – P. 73–79.
 165. Katona E., Haramura G., Karpati L., Fachet J., Muszbek L. // *Thromb. Haemost.* – 2000. – V.83. - №2. – P. 268–273.
 166. Balogh I., Szoke G., Karpati L., Wartiovaara U., Katona E., Komaromi I., Haramura G., Pfieglér G., Mikola H., Muszbek L. // *Blood.* – 2000. - V.96. - №7. - P. 2479–2486.
 167. Girolami A., Burul A., Fabris F., Cappelato G., Betterle C. // *Folia Haematol.* – 1978. – V.105. – P. 131–141.
 168. Ichinose A., Izumi T., Hashiguchi T. // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1996. – V.22. - №5. – P. 385–391.

169. Shainoff J., Estafanous F., Yared J., DiBello P., Kottke-Marchant K., Loop F. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1994. – V.108. – №3. – P. 437-445.
170. Godje O., Haushofer M., Lamm P., Reichart B. // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1998. – V.46. – №5. – P. 263-267.
171. Oshitani N., Kitano A., Hara J., Suzuki N., Aoki T., Yasuda K., Watanabe Y., Obayashi M., Obata A., Nakamura S. et al. // *Am. J. Gastroenterol.* – 1995. – V.90. – №7. – P. 1116-1118.
172. Wilmer M., Rudin K., Kolde H., Poetzsch B., Lenz W., Moessmer G., Meili E., Egbring R., Gempeler-Messina P., Gempeler M., Bastian S., Kohler H. // *Thromb. Res.* – 2001. – V.102. – №1. – P. 81-91.
173. Anwar R., Gallivan L., Edmonds S., Markham A. // *Blood.* – 1999. – V.1. – №93. – №3. – P. 897-905.
174. Mousli S., Wakid N. // *Clin. Chem.* – 1977. – V.23. – №9. – P. 1739-1743.
175. Fickenscher K., Aab A., Stuber W. // *Thromb. Haemostas.* – 1991. – V.65. – №5. – P. 535-540.
176. Lorand L., Campbell-Wilkes L., Cooperstein L. // *Anal. Biochem.* – 1972. – V.50. – P. 623-631.
177. Lorand L., Lockridge O., Campbell K., Myhrman R., Bruner-Lorand J. // *Anal. Biochem.* – 1971. – V.44. – P. 221-231.
178. Lorand L., Parameswaran K., Velasco P., Hsu L., Siefring G. // *Anal. Biochem.* – 1983. – V.131. – P. 419-425.
179. Lee K. N., Birckbichler P. J., Patterson M. K. // *Clin. Chem.* – 1988. – V.34. – №5. – P. 906-910.
180. Slaughter T. F., Achyuthan K. E., Lai T. S., Greenberg C. S. // *Anal. Biochem.* – 1992. – V.205. – №1. – P. 166-171.
181. Song Y., Sheng D., Taubenfeld S., Matsueda G. // *Anal. Biochem.* – 1994. – V.223. – №1. – P. 88-92.
182. Achyuthan K. E., Santiago M. A., Greenberg C. S. // *Anal. Biochem.* – 1994. – V.15. – №219(1). – P. 43-48.
183. Nelson J. C., Lerner R. G. // *Blood.* – 1978. – V.52. – №3. – P. 581-591.
184. Muszbek L., Polgar J., Fesus L. // *Clin. Chem.* – 1985. – V.31. – №1. – P. 35-40.
185. Miraglia C. C., Greenberg C. S. // *Anal. Biochem.* – 1985. – V.144. – №1. – P. 165-171.
186. van Wersch J. W. // *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 1993. – V.31. – №7. – P. 467-471.
187. Ballerini G., Gemmati D., Moratelli S., Morelli P., Serino M. // *Thromb. Res.* – 1995. – V.78. – №5. – P. 451-456.
188. Wagner B., Seyfert U., Gosse M., Wenzel E., Fickenscher K., Ruhl H. // *Thromb. Res.* – 1994. – V.74. – P. 169.
189. Heins M., Fahron U., Withold W., Rick W. // *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 1994. – V.32. – №6. – P. 479-483.
190. Karpati L., Penke B., Katona E., Balogh I., Vamosi G., Muszbek L. A. // *Clin. Chem.* – 2000. – V.46. – №12. – P. 1946-1955.
191. Thomson J. M. / *Practical guide to blood coagulation and haemostasis.* – London. – 1970. – 217p.
192. Sinridge M. S. / *Laboratory Evaluation of Homeostasis.* – Philadelphia: Lea and Febiger. – 1972. – P. 139.
193. Laposata M. et al. / *The Clinical Hemostasis Handbook.* – Year Book Medical Publishers, Inc. – 1989. – P. 67-68.
194. Ichinose A. // *Thromb. Haemost.* – 2001. – V.86. – P. 57-66.
195. Seitz R., Duckert F., Lopaciuk S., Muszbek L., Rodeghiero F., Seligsohn U. // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1996. – V.22. – №5. – P. 415-418.
196. Sigg P. E. // *Diathes. haemorrh.* – 1966. – V.15. – №2. – P. 238-241.
197. Балуда В. П., Жукова Н. А., Руказенкова Ж. Н. // *Лаб. дело.* – 1965. – №7. – С. 417.
198. Андреев Г. В., Алтухова С. Н. // *Лаб. дело.* – 1972. – № 11. – С. 656-658.
199. Иванов Е. П. / *Диагностика нарушений гемостаза.* – Минск, Беларусь, 1983. – 224 с.
200. Jasso M. // *Haematologie. Nouv. Rev. Franc.* – 1964. – V.4. – P. 267.
201. Уманский М. А., Берлинт В. М. // *Лаб. дело.* – 1972. – №11. – С. 663-665.
202. Loewy A., Dahlberg A., Dunathan K., Kriel K., Wolfingtr J. // *J. Biol. Chem.* – 1961. – V.236. – P. 2634-2643.
203. Андреев Г. В. / *Методы исследования фибринолитической системы крови.* — Издательство Московского университета, 1981. – 132 с.
204. Fradera J., Haddock J., Perez-Santiago E., Maldonado N. // *Bol. Asoc. Med. P. R.* – 1969. – V.61. – №8. – P. 294-299.
205. Egbring R., Andrassy K., Egli H., Meyer-Lindenberg J. // *Thromb. Diath. Haemorrh.* – 1970. – V.23. – №2. – P. 313-339.
206. Prakash S., Kela K., Gopal R. // *J. Assoc. Physicians. India.* – 1981. – V.29. – №6. – P. 475-479.
207. Coggan M., Baker R., Miloszewski K., Woodfield G., Board P. // *Blood.* – 1995. – V.85. – №9. – P. 2455-2460.
208. Tosetto A., Castaman G., Rodeghiero F. //

- Haematologica. – 1993. – V.78. – №6 (Suppl 2). – P. 5-10.
209. Dhot P. S., Saraya A. K., Saxena R., Malhotra O. P. // J. Assoc. Physicians. India. – 1994. – V.42. – №10. – P. 843.
210. Mamel J. J. // Am. J. Gastroenterol. – 1990. – V.85. – №3. – P. 321-322.
211. Tapon-Brethaudiere J. // Transfus. Clin. Biol. – 2000. – V.7. – №6. – P. 549-552.
212. Morange P., Henry M., Brunet D., Aillaud M., Juhan-Vague I. // Blood. – 2001. – V.97. – №6. – P. 1894-1895.
213. Margaglione M., Bossone A., Brancaccio V., Ciampa A., Di Minno G. // Thromb. Haemost. – 2000. – V.84. – №6. – P. 1118-1119.
214. Mikkola H., Palotie A. // Semin. Thromb. Hemost. – 1996. – V.22. – №5. – P. 393-398.
215. Mikkola H., Yee V., Syrjala M., Seitz R., Egbring R., Petrini P., Ljung R., Ingerslev J., Teller D., Peltonen L., Palotie A. // Blood. – 1996. – V.87. – №1. – P. 141-151.
216. Inbal A., Yee V., Kornbrot N., Zivelin A., Brenner B., Seligsohn U. // Thromb. Haemost. – 1997. – V.77. – №6. – P. 1062-1067.
217. Chamouard P., Grunebaum L., Wiesel M. L., Sibilia J., Coumaros G., Wittersheim C., Bau-mann R., Cazenave J. P. // Am. J. Gastroenterol. – 1998. – V.93. – №4. – P. 610-614.
218. Styczynski J., Drabik T., Palgan I. // Wiad. Lek. – 1997. – V.50. – №7-9. – P. 190-192.
219. Linskens R. K., van Bodegraven A., Schoorl M., Tuynman H., Bartels P. // Dig. Dis. Sci. – 2001. – V.46. – №3. – P. 644-658.
220. Menges B., von Lessen A., Welters I., Wagner R., Ruwoldt R., Boldt J., Hempelmann G. // Infusionsther. Transfusionsmed. – 1994. – V.21. – №4. – P. 244-250.
221. Sugimura D., Fukue H., Arai M., Matsumoto K., Fukutake K. // Rinsho Byori. – 1996. – V.44. – №4. – P. 355-361.
222. Okumura N., Matsuzawa A., Terasawa F., Kameko M., Sasaki Y., Nakagoshi R., Ishi-kawa S., Hashikura Y., Matsunami H., Kawasaki S. et al // Rinsho Byori. – 1995. – V.43. – №3. – P. 269-274.
223. Born P., Lippl F., Ulm K., Gerein P., Lersch C., Eckel F., Fischer G., Sandschin W., Dlaska U., Classen M. // Hepatogastroenterology. – 2000. – V.47. – №31. – P. 194-198.
224. Petri M., Ellman L., Carey R. // Ann. Intern. Med. – 1983. – V.99. – №5. – P. 638-639.
225. Board P., Coggan M., Miloszewski K. // Blood. – 1992. – V.80. – №4. – P. 937-941.
226. Mikkola H., Syrjala M., Rasi V., Vahtera E., Hamalainen E., Peltonen L., Palotie A. // Blood. – 1994. – V.84. – №2. – P. 517-525.
227. Anwar R., Gallivan L., Trinh C., Hill F., Markham A. // Eur. J. Haematol. – 2001. – V.66. – №2. – P. 133-136.
228. Izumi T., Hashiguchi T., Castaman G., Tositto A., Rodeghiero F., Girolami A., Ichinose A. // Blood. – 1996. – V.87. – №7. – P. 2769-2774.
229. Castle S., Board P. G., Anderson R. A. // Br. J. Haematol. – 1981. – V.48. – №2. – P. 337-342.
230. Ichinose A. // Tanpakushitsu Kakusan. Koso. – 1988. – 33. – №5. – P. 984-987.
231. Gomez Garcia E., Poort S., Stibbe J., Sturk A., Schaap M., Kappers M., Bertina R. // Br. J. Haematol. – 2001. – V.112. – №2. – P. 513-518.
232. Kamura T., Okamura T., Murakawa M., Tsuda H., Teshima T., Shibuya T., Harada M., Niho Y. // J. Clin. Invest. – 1992. – V.90. – №2. – P. 315-319.
233. Ichinose A., Tsukamoto H., Izumi T., Yamazaki T., Togashi M., Takamatsu J., Saito H., Umeyama H. // Br. J. Haematol. – 1998. – V.101. – P. 264-272.
234. Capellato M. G., Lazzaro A. R., Marafioti F., Polato G., Girolami A. // Haematologia. – 1987. – V.20. – №3. – P. 179-187.
235. Saito M., Asakura H., Yoshida T., Ito K., Okafuji K., Yoshida T., Matsuda T. // Br. J. Haematol. – 1990. – V.74. – P. 290-294.
236. Koseki S., Soury M., Koga S., Yamakawa M., Shitishima T., Maruyama Y., Yanai F., Ichinose A. // Blood. – 2001. – V.97. – №9. – P. 2667-2672.
237. Rodeghiero F., Tositto A., Di Bona E., Castaman G. // Am. J. Hematol. – 1991. – V.36. – P. 30-34.
238. Egbring R., Kroniger A., Seitz R. // Semin. Thromb. Hemost. – 1996. – V.22. – №5. – P. 419-425.
239. Mikkola H., Muszbek L., Laiho E., Syrjala M., Hamalainen E., Haramura G., Salmi T., Pelto L., Palotie A. // Blood. – 1997. – V.89. – P. 1279-1287.
240. Izumi T., Nagaoka U., Saito T., Takamatsu J., Saito H., Ichinose A. // Thromb. Haemost. – 1998. – V.79. – №3. – P. 479-485.
241. Patel A., Chandy M., Raghupathy P., Kirubakaran C., Khanduri U. // Indian J. Pediatr. – 1993. – V.60. – № 3. – P. 441-444.
242. Blanckaert D., Oueidat I., Chelala J., Loeuille G., Delepoulle F. // Pediatrie. – 1993. – V.48. – № 6. – P. 451-453.
243. Quiel V. // Zentralbl. Gynakol. – 1993. – V.115. – № 12. – P. 562-564.
244. Jia X., Zheng H., Chen S. // Chung. Hua. Nei. Ko. Tsai. Chih. – 1996. – V.35. – №9. – P. 598-600.
245. Shaikh A., Khurshid M. // J. Pak. Med. Assoc. –

1993. – V.43. – №4. – P. 67-69.

246. Gallivan L., Minford A., Trinh C., Markham A., Anwar R. // *Thromb. Haemost.* – 2001(suppl), ab.: P1130.

247. Anwar R., Minford A., Gallivan L., Trinh C., Markham A. // *Pediatrics.* – 2002. – V.109. – №2. – P. E32.

248. Al-Zahrani H., Al-Sharif F., Al-Jurf M., Roberts G., Al-Momen A., Al-Ajlan A., Al-Nounou R., Al-Mohareb F., Musa M., Seth P., Aslam M., Zaidi Z. // *Thromb. Haemost.* – 2001(suppl.), ab.: CD3207.

249. Shigemori M., Kojima T., Kojo N., Kuboyama M., Tokutomi T., Yuge T., Nakajima N., Wa-tanabe M., Kuramoto S. // *No. Shinkei. Geka.* – 1984. – V.12. – №10. – P. 1167-1171.

250. Nakajima M., Nakazawa T., Matsuda M., Handa J., Hayami M., Miyamoto Y., Ohta S. // *No. Shinkei. Geka.* – 1999. – V.27. – №5. – P. 465-468.

251. Laosombat V., Maipang M., Wongchanchailert M. // *J. Med. Assoc. Thai.* – 1989. – V.72. – №12. – P. 701-707.

252. Zimmermann R., Ehlers W., Manz F., Meinrenken W., Egbring R., Gemmeke H. // *Blut.* – 1977. – V.35. – №6. – P. 457-464.

253. Lorand L., Losowsky M., Miloszewski K. // *Progr. Haemostas. Thrombos.* – 1980. – V.5. – P. 245-290.

254. Miloszewski K., Losowsky M. / *Fibrinogen, Fibrin Stabilisation and Fibrinolysis.* / Ed. Francis J. L. - Chichester: Ellis Horwood. - 1988. - P. 175-202.

255. Cario E., Goebell H., Dignass A. U. // *Scand. J Gastroenterol.* – 1999. – V.34. – №5. – P. 485-490.

256. Brockmeier S. J., Schwub D., Gloddek B. // *Laryngorhinootologie.* – 1998. – V.77. – №12. – P. 715-718.

257. D'Argenio G., Grossman A., Cosenza V., Valle N., Mazzacca G., Bishop P. // *Dig. Dis. Sci.* – 2000. – V.45. – №5. – P. 987-997.

258. Becker S., Weidt F., Rohl K. // *Spinal Cord.* – 2001. – V.39. – №2. – P. 114-117.

259. Wozniak G., Dapper F., Alemany J. // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1996. – V.22. – №5. – P. 445-450.

260. Peschen M., Thimm C., Weyl A., Weiss J., Kurz H., Augustin M., Simon J., Schopf E., Van-scheidt W. // *Vasa.* – 1998. – V.27. – №2. – P. 89-93.

261. Wozniak G., Noll T., Bott U., Hehrlein F. // *Zentralbl. Chir.* – 1999. – V.124 (Suppl 1). – P. 73-77.

262. Herouy Y., Hellstern M., Vanscheidt W., Schopf E., Norgauer J. // *Lancet.* – 2000. – V.355. – №9219. – P. 1970-1971.

263. Gerngross H., Claes L. // In: McDonagh J, Seitz R, Egbring R, editors. *Factor XIII: Second international conference.* - Stuttgart: Schattauer. – 1993. - P. 271.

264. Kienapfel H., Wilke A., Dorner P., Jurgensen R., Prinz H., Hettel A., Swain R., Griss P. // *Z. Orthop. Ihre. Grenzgeb.* – 1995. – V.133. – №5. – P. 394-400.

265. Rodeghiero F., Castaman G., Di Bona E., Ruggeri M., Dini E. // *Blut.* – 1987. – V.55. – P. 45-48.

266. Kobayashi T., Terao T., Kojima T., Takamatsu J., Kamiya T., Saito H. // *Gynec. Obstet. Invest.* – 1990. – V.29. – P. 235-238.

267. Asahina T., Kobayashi T., Okada Y., Goto J., Terao T. // *Placenta.* – 2000. – V.21. – P. 388

268. Boda Z., Pfliegler G., Muszbek L., Toth A., Adany R., Harsfalvi J., Papp Z., Tornai I., Rak K. // *Haemostasis.* – 1989. – V.19. – P. 348-352.

269. Burrows R. F., Ray J. G., Burrows E. A. // *Obstet Gynecol Surv.* – 2000. – V.55. – №2. – P. 103-108.

270. Asahina T., Kobayashi T., Okada Y., Itoh M., Yamashita M., Inamoto Y., Terao T. // *Horm. Res.* – 1998. – V.50 (Suppl 2). – P. 37-45.

271. Muszbek L., Adany R., Kawai M., Boda Z., Lopaciuk S. // *Thromb. Haemost.* – 1988. – V.59. – P. 231-235.

272. Board P. G., Losowsky M. S., Miloszewski K. J. // *Blood Rev.* – 1993. – V.7. – №4. – P. 229-242.

273. Kamitsuji H., Tani K., Yasui M., Taniguchi A., Taira K., Tsukada S., Iida Y., Kanki H., Fukui H. // *Eur. J. Pediatr.* – 1987. – V.146. – №5. – P. 519-523.

274. Gerlach R., Raabe A., Zimmermann M., Siegemund A., Seifert M. // *Surg. Neurol.* – 2000. – V.54. – №3. – P. 260-264.

275. Korte W., Wettstein P., Truttman B., Corbetta C., Kreienbuhl G. // *Thromb. Haemost.* 2001 (suppl). – ab.: P. 2602.

276. Wisen O., Gardlund B. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1988. – V.23. – №8. – P. 961-966.

277. Lorenz R., Born P., Classen M. // *Med. Klin.* – 1994. – V.89. – №10. – P. 534-537.

278. Van Bodegraven A., Tuynman H., Schoorl M., Kruisshoop A., Bartels P. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1995. – V.30. – №6. – P. 580-585.

279. Chiarantini E., Valanzano R., Liotta A. A., Cellai A. P., Ilari I., Prisco D., Antonucci E., Tonelli F., Abbate R. // *Thromb. Res.* – 1997. – V.87. – №6. – P. 539-546.

280. Vrij A., Rijken J., van Wersch J., Stockbrugger R. // *Haemostasis.* – 1999. – V.29. – №6. – P. 326-335.

281. Seitz R., Leugner F., Katschinski M., Immel A., Kraus M., Egbring R., Goke B. // *Digestion.* – 1994. – V.55. – №6. – P. 361-367.

282. Баркаган З. С. // Пробл. гематол. и переливания крови. – 1996. – №3. – С. 5-15.

283. Lorenz R., Clemens R., Karl M., Classen M. // *Z.*

Gastroenterol. – 1989. – V.27. – №2. – P. 87-90.

284. Oshitani N., Nakamura S., Matsumoto T., Kobayashi K., Kitano A. // *Lancet*. – 1996. – V.347. – №8994. – P. 119-120.

285. Lorenz R., Heinmuller M., Classen M., Tornieporth N., Gain T. // *Haemostasis*. – 1991. – V.21. – №1. – P. 5-9.

286. Nielsen O., Vainer B., Bregenholt S., Claesson M., Bishop P., Kirman I. // *Cytokines Cell. Mol. Ther.* – 1997. – V.3. – №4. – P. 267-281.

287. Dasi-Carpio M., Villa P., Ribes C., Gosalvez J. // *Thromb. Haemost.* – 2001(suppl.), Ab. P292.

288. Lorenz R., Olbert P., Born P. // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1996. – V.22. – №5. – P. 451-455.

289. Henriksson P., Hedner U., Nilsson I. // *Acta Paediatr. Scand.* – 1977. – V.66. – №3. – P. 273-277.

290. De Mattia D., Penza R., Giordano P., Del Vecchio G., Aceto G., Altomare M., Schettini F. // *Pediatr. Nephrol.* – 1995. – V.9. – №5. – P. 603-605.

291. Dalens B., Bezou M. J., Goumy P., Demeocq F., Menut G. // *Arch. Fr. Pediatr.* – 1980. – V.37. – №2. – P. 99-101

292. Dalens B., Travade P., Labbe A., Bezou M. // *Arch. Dis. Child.* – 1983. – V.58. – №1. – P. 12-14.

293. van Wersch J., Peters C., Ubachs J. // *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 1994. – V.32. – №9. – P. 681-684.

294. Rasche H. // *Beitr. Infusionther Klin. Ernahr.* – 1986. – V.15. – P. 179-186.

295. Seitz R., Goke B., Egbring R., Nowak P., Strauer B., Havemann K. // *Internist.* – 1987. – V.28. – №9. – P. 623-627.

296. Anders O., Gorss E., Ernst B., Konrad H. // *Folia. Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blut-forsch.* – 1987. – V.114. – №5. – P. 670-679.

297. Karoui M., Bel Haj Ali Z., Ben Othman T., Hafsia A., Mtimet B., Boussen M. // *Tunis. Med.* – 1989. – V.67. – №1. – P. 57-60.

298. Ryo R., Sugano W., Yoshida A., Adachi M., Yasunaga M., Yoneda N., Saigo K., Kondo S., Yamaguchi N., Nobusawa A. et al. // *Gan. No. Rinsho.* – 1989. – V.35. – №12. – P. 1479-1482.

299. Woitinas F. // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 1991. – V.116. – №30. – P. 1154-1159.

300. Invernizzi R., De Fazio P., Iannone A., Zambelli L., Rastaldi M., Ippoliti G., Ascari E. // *Leuk. Res.* – 1992. – V.16. – №8. – P. 829-836.

301. Dombret H., Scrobohaci M., Ghorra P., Zini J., Daniel M., Castaigne S., Degos L. // *Leukemia*. – 1993. – V.7. – №1. – P. 2-9.

302. Sakuma H., Satoh T., Matsumoto E., Kanno H.,

Watanabe M., Kikuta A., Suzuki H. // *Rinsho Ketsueki*. – 1994. – V.35. – №3. – P. 279-285.

303. Zoller H. // *Arzneimittelforschung*. – 1977. – V.27. – №7. – P. 1500-1502.

304. Rasche H., Haghou F., Gaus W., Dietrich M., Hoelzer D., Pflieger H., Kurrle E., Pindur G., Seifried E., Heimpel H. // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 1982. – V.107. – №49. – P. 1882-1886.

305. Bernecka I., Klepacki A., Ostrowska H. // *Rocz. Akad. Med. Bialymst.* – 1992. – V.37. – P. 3-7.

306. Toida M., Okumura Y., Swe Win K., Oka N., Takami T., Adany R. // *Histochem. J.* – 1995. – V.27. – №6. – P. 449-456.

307. Molnar P., Nemes Z. // *Clin. Neuropathol.* – 1995. – V.14. – №1. – P. 19-24.

308. Wojtukiewicz M., Zacharski L., Memoli V., Kisiel W., Kudryk B., Rousseau S., Stump D. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1990. – V.93. – №4. – P. 516-521.

309. Ornstein D., Zacharski L., Memoli V., Kisiel W., Kudryk B., Hunt J., Rousseau S., Stump D. // *Cancer*. – 1991. – V.68. – №5. – P. 1061-1067.

310. Bardos H., Molnar P., Csecsei G., Adany R. // *Blood Coagul. Fibrinolysis*. – 1996. – V.7. – №5. – P. 536-548.

311. Bardos H., Juhasz A., Repassy G., Adany R. // *Thromb. Haemost.* – 1998. – V.80. – №5. – P. 767-772.

312. Wojtukiewicz M., Rucinska M., Zacharski L., Kozlowski L., Zimnoch L., Piotrowski Z., Kudryk B., Kisiel W. // *Thromb. Haemost.* – 2001. – V.86. – №6. – P. 1416-1420.

313. Chandler W. L., Patel M. A., Gravelle L., Soltow L. O., Lewis K., Bishop P. D., Spiess B. D. // *Blood Coagul Fibrinolysis*. – 2001. – V.12. – P. 101-108.

314. Kawamura A., Tamaki N., Yonezawa K., Nakamura M., Asada M. // *No. Shinkei. Geka*. – 1997. – V. 25. – №1. – P. 53-56.

315. Ballerini G., Guerra S., Rodeghiero F., Castaman G. // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1985. – V.11. – №4. – P. 357-361.

316. Carmassi F., Mariani G., Palla R., Fusani L., Bionda A., Molea N., Bianchi R. // *Nephron*. – 1980. – V.25. – №4. – P. 179-183.

317. Guth H., Klingbeil A., Wiedenhof I., Rose H., Kraatz G. // *Int. J. Artif. Organs*. – 1999. – V.22. – №7. – P. 482-487.

318. Kloczko J., Wojtukiewicz M., Bielawiec M. // *Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blut-forsch.* – 1986. – V.113. – №6. – P. 810-814.

319. Holst F., Hemmer C., Foth C., Seitz R., Egbring R., Dietrich M. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 1999. – V. 60. –

№1. – P. 99-104.

320. Heinle K., Adam O., Rauh G. // Clin. Rheumatol. – 1998. – V.17. - №4. – P. 346-348.

321. Anstey A., Mayne K., Winter M., Van de Pette J., Pope F. // Br. J. Dermatol. – 1991. – V.125. - №2. – P. 155-163.

322. Nishida S. // No To Shinkei. – 1992. – V.44. - №6. – P. 565-570.

323. Seiving B., Henriksson P., Stenberg P., Nilsson I. // Br. J. Haematol. – 1992. – V.82. - №2. – P. 414-416.

324. Tosetto A., Rodeghiero F., Gatto E., Manotti C., Poli T. // Am. J. Hematol. – 1995. – V.48. - №1. – P. 34-39.

325. Otis P. T., Feinstein D. I., Rapaport S. I., Patch M. J. // Blood. – 1974. – V.44. - №6. – P. 771-781.

326. Krumdieck R., Shaw D., Huang S., Poon M., Rustagi P. // Am. J. Med. – V. 1991. - №90. - №5. – P. 639-645.

327. Shires L., Gomperts E., Bradlow B. // S. Afr. Med. J. – 1979. – V.56. - №2. – P. 70-72.

328. Al-Zahrani, Ahmed M., Al-Sherif F., Hashem F., Nahdi F., Roberts G. // Thromb. Haemost. -2001(suppl.), ab: CD3206.

329. Donnet A., Trefouret S., Alessi M., Harle J., Graziani N., Grisoli F. // Rev. Neurol. – 1994. – V.150. – №2. – P. 164-166.

330. Ahmad F., Solymoss S., Poon M., Berube C., Sullivan A. // Br. J. Haematol. – 1996. – V.93. - №3. – P. 700-703.

331. Lorand L., Velasco P., Murthy S., Lefebvre P., Green D. // Blood. – 1999. – V.93. - №3. – P. 909-917.

332. Arocha-Pinango C. L. // Acta Cientifica Venezolana. – 1967. – V.18. – P. 136-139.

333. Arocha-Pinango C., Blumenfeld-Bosch N., Nouel A., Torres A., Perales J., Alonso M., Rodriguez S., Carvajal Z., Ojeda A., Tasayco M., Chitty W. / Hemostasis and Animal Venoms. / Eds. Pirkle H., Markland F. - New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker. - 1988. - P. 223-240.

334. Arocha-Pinango C., Blumenfeld-Bosch N., Torres A., Goldstein C., Nouel A., Arguello A., Carvajal Z., Guerrero B., Ojeda A., Rodriguez S. // Thromb. Hemost. – 1992. V.67. – P. 402-407.

335. Fraiha-Neto H., Ballarini H., Leo R., Costa Jr., Dias D. // Fundagao servicesde saudeptiblic Belem. – 1986. – V.44. – P. 811-820.

336. Hommel D., Bouchareine L., Hulin A. // A propos de deux cas en Guyane Francaise, Sem. Hop. Paris. – 1995. – V.71. – P. 9-12.

337. Guerrero B., Perales J., Gil A., Arocha-Pinango C. L. // Thromb. Res. – 1999. – V.93. – №5. – P. 243-252.

338. Guerrero B., Arocha-Pinango C., Alves Pinto M., Muller C., Gil San Juan A., Perales S. // Blood Coagulation and Fibrinolysis. – 2001. – V.12. – P. 521-529.

339. Guerrero B., Perales J., Alves Pinto M., Muller C., Gil San Juan A., Amorim S., Arocha-Pinango C. // Thromb. Haemost. – 2001 (suppl.), ab.: P437.

340. Lucic A., Popovic K., Radicev M., Stanulovic D. // Med. Pregl. – 1973. – V.26. - №5. – P. 181-182.

341. Thies H., Kuder E. // Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blutforsch. – 1975. – V.102. - №2. – P. 201-206.

342. Daly H.M., Haddon M.E. // Thromb. Haemost. – 1988. – V.59. - №2. – P. 171-174.

343. DiPaola J., Nugent D., Young G. // Haemophilia. – 2001. – V.7 (Suppl 1). – P. 16-22.

344. Gootenberg J. // Curr. Opin. Hematol. – 1998. – V.5. - №6. – P. 372-375.

345. Vicente V., Alberca I., de Cecilia A., Portero J., Borrascas L. // Sangre (Barc). – 1984. – V.29. - №1. – P. 42-46.

346. Karges H., Metzner H. // Semin. Thromb. Hemost. – 1996. – V.22. - №5. – P. 427-436.

347. Brackmann H., Egbring R., Ferster A., Fondu P., Girardel J., Kreuz W., Masure R., Miloszewski K., Stibbe J., Zimmermann R. et al. // Thromb. Haemost. – 1995. – V.74. - №2. - P. 622-625.

348. Lai T. S., Santiago M. A., Achyuthan K. E., Greenberg C. S. // Protein Expr. Purif. – 1994. – V.5. - №2. – P. 125-132.

349. Kurochkin I., Procyk R., Bishop P., Yee V., Teller D., Ingham K., Medved L. // J. Mol. Biol. – 1995. – V.248. - №2. – P. 414-430.

350. Laohaprasit V., Edwards M., Mayberg M. // Neurosurgery. – 1993. – V.32. - №4. – P. 630-634.

351. Баркаган З. С., Момот А.П. / Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М., Ньюдиамед-АО, 2001. – 296 с.

352. Баркаган З. С., Момот А.П. // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000. – №1. – С. 21.

353. Баркаган З. С. Классификация гематогенных тромбофилий. // В кн: Клинико-лабораторная диагностика предтромбоза и тромботических состояний. – С.-Петербург, 1991. – С. 5-15.

354. Папаян Л. П. Проблемы диагностики тромбофилии. // В сб: Труды проблемной комиссии при Межведомственном Научном Совете по гематологии и трансфузиологии РАМН. «Проблемы физиологии и патологии гемостаза». – Барнаул, 2000. – С. 213-221.

355. Патрушев Л. И. // Биохимия. – 2002. – №1. – С. 40-56.

356. Баркаган З. С., Момот А. П. // Клин. лаб. диагностика. – 1999. – № 10. – С. 38.
357. Kangsadalampai S., Board P. // Blood. – 1998. – V.92. – №8. – P. 2766-2770.
358. van Hylckama V., Komanasin N., Ariens R., Poort S., Grant P., Bertina R., Rossendaal F. // Thromb. Haemost. – 2001 (suppl).
359. Wartiovaara U., Mikkola H., Szoke G., Haramura G., Karpati L., Balogh I., Lassila R., Muszbek L., Palotie A. // Thromb. Haemost. – 2000. – V.84. – №4. – P. 595-600.
360. Ariens R., Philippou H., Nagaswami C., Weisel J., Lane D., Grant P. // Blood. – 2000. – V.96. – №3. – P. 988-995.
361. Robert A., Philippou H., Nagaswami C., Weisel J., Lane D., Grant P. // Blood. – 2000. – V.96. – №3(1). P. 988-995.
362. Franco R., Reitsma P., Lourenco D., Maffei F., Morelli V., Tavella M., Araujo A., Piccinato C., Zago M. // Thromb. Haemost. – 1999. – V.81. – №5. – P. 676-679.
363. Catto A. J., Kohler H. P., Coore J., Mansfield M. W., Stickland M. H., Grant P. J. // Blood. – 1999. – V.93. – №3. – P. 906-908.
364. Elbaz A., Poirier O., Canaple S., Cambien F., Amarenco P. // Blood. – 2000. – V.95. – №2. – P. 586-591.
365. Ehrenforth S., Zwinge B., Krause M., Wulff K., Herrmann F., Scharrer I. // Thromb. Haemost. – 2001 (suppl), P597.
366. Kohler H., Stickland M., Ossei-Gerning N., Carter A., Mikkola H., Grant P. // Thromb. Haemost. – 1998. – V.79. – P. 8.
367. Suzuki K., Henke J., Iwata M., Henke L., Tsuji H., Fukunaga T., Ishimoto G., Szekelyi M., Ito S. // Hum. Genet. – 1996. – V.98. – P. 393.
368. Wartiovaara U., Perola M., Mikkola H. et al. // Atherosclerosis. – 1999. – V.142. – P. 295-300.
369. Trumbo T. A., Maurer M. C. // J. Biol. Chem. – 2000. – V.275. – №27. – P. 20627-20631.
370. Franco R., Pazin-Filho A., Tavella M., Simoes M., Marin-Neto J., Zago M. // Haematologica. – 2000. – V.85. – №1. – P. 67-71.
371. Roldan V., Corral J., Gonzalez-Conejero R., Marin F., Pineda J., Martinez C., Vicente V. // Thromb. Haemost. – 2001(suppl). – ab.: P599.
372. Racadot E., Le Bourvellec B., Sancey L., Bulabois B., Ferrand C., Herve P. Evolution of the t-PA I/D, PAI-1 4G/5G and Factor XIII Val34Leu polymorphism in patient with thrombo-embolic diseases. // Thromb. Haemost. – 2001(suppl). – ab.: CD3251.
373. Zheng H., Butt C., Randell E., Porter M., Parfrey P., Xie Y.-G. // Thromb. Haemost. – 2001(suppl), ab.: OC95.
374. Doggen C. J. M., Vos H. L., Bertina R.M., Rosendaal F.R. // Thromb. Haemost. – 2001(suppl), ab. P598.

Цитокины и регуляторные пептиды: возрастные изменения, система гемостаза и тромботические заболевания

(Обзор литературы и собственных данных)

Сообщение первое

Б. И. Кузник^{1,3}, В. Х. Хавинсон^{2,3}

¹ – ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия»

² – Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

³ – Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии

Резюме

Показано, что существует зависимость между содержанием про-, противовоспалительных и иммунных цитокинов и сроком жизни, а также развитием сердечно-сосудистых катастроф. В большинстве случаев провоспалительные (IL-1, IL-6, IL-8, TNFα и др.) и иммунные цитокины (IL-2, IL-5) усиливают агрегацию тромбоцитов и повышают содержание фактора фон Виллебранда, тогда как противовоспалительные (IL-4, IL-6) проявляют прямо противоположный эффект.

Ключевые слова

Цитокины, тромбоциты, агрегация, продолжительность жизни

Общие представления о цитокинах

За последние три десятилетия накоплен значительный материал, свидетельствующий о непосредственной связи между системами врожденного и адаптивного иммунитета и гемостаза, осуществляемой через макрофаги, лейкоциты, тромбоциты, сосудистую стенку, комплемент, простагландины, лейкотриены и фибронектин [4, 5, 13, 15, 18, 23, 29, 30, 35, 75]. Особое место в этом списке занимают цитокины, одной из основных функций которых является взаимосвязь иммунокомпетентных клеток. Цитокины, по образному выражению М. А. Пальцева и др. [26], составляют «микроэндокринную систему». Они не только принимают участие в регуляции иммунного ответа и гемопоэзе, но и оказывают

выраженное влияние на самые различные функции организма [9, 11, 14, 26, 39, 53, 64, 76].

В настоящее время выявлено около 200 цитокинов. Все они объединяются следующими общими свойствами:

1. Синтезируются в процессе реализации неспецифических механизмов защиты, или иммунного ответа;
2. Проявляют, как и гормоны, свою активность при очень низких концентрациях (10^{-10} – 10^{-11} моль/литр);
3. Служат медиаторами иммунного ответа и воспалительной реакции и обладают паракринной, аутокринной и эндокринной активностью;
4. Действуют как факторы роста и факторы дифференцировки различных клеток;
5. Образуют разветвленную регуляторную сеть, в которой отдельные соединения проявляют синергическое или антагонистическое действие;
6. Обладают полифункциональной активностью и перекрывающимися функциями, что обеспечивает высокую надежность действия указанных соединений;
7. Не обладают антигенной специфичностью [9, 28, 31].

Условно все цитокины можно разделить на 4 группы:

1. интерлейкины (IL);
2. интерфероны – INF (α, β, γ и ω);

3. гемопоэтические колониестимулирующие ростовые факторы;
4. факторы, тормозящие опухолевый рост, — фактор некроза опухолей (TNF) α и β , онкостатин М, лейкозингибирующий фактор и др.

Основное назначение интерлейкинов — обеспечение взаимосвязи между отдельными клетками в процессе иммунного ответа. Отсюда и произошло их наименование. Однако в последующем было выяснено, что интерлейкины обладают более широким спектром действия. В настоящее время название интерлейкин присваивается вновь открытому медиатору лишь в том случае, если соблюдены следующие критерии:

1. молекулярное клонирование и экспрессия гена вновь открытого цитокина;
2. наличие уникальной нуклеотидной и соответствующей ей аминокислотной последовательности;
3. получение нейтрализующих моноклональных антител;
4. обязательная продукция клетками, принимающими участие в иммунном ответе;
5. наличие важной биологической функции в регуляции иммунного ответа, а также дополнительные свойства, не позволяющие дать обнаруженному соединению иное название [9, 11, 26, 30].

Цитокины синтезируются макрофагами, всеми видами лейкоцитов (преимущественно моноцитами и лимфоцитами, тромбоцитами, эндотелиоцитами, фибробластами, эпителиальными и тучными клетками, а также различными клетками (глией, астроцитами) ЦНС. Большинство цитокинов, за исключением IL-1 и IL-4, действуют преимущественно местно. Эффекты цитокинов выявляются практически во всех органах: красном костном мозге, печени, сосудах, центральной нервной системе, эндокринной системе и т. д. В случае несостоятельности местных защитных реакций цитокины попадают в циркуляцию и их действие проявляется на системном уровне [9, 29, 30].

Оказывая влияние на центральную нервную систему, цитокины изменяют весь комплекс поведенческих реакций. При этом усиливается синтез многих гормонов и острофазных белков, происходят сдвиги в ионном составе плазмы и

клеток, а также наступает экспрессия генов ростовых и дифференцировочных факторов [26].

По функциям цитокины принято разделять на 4 группы:

1. лимфоцитарные цитокины (IL-2, IL-4, TGF β);
2. доиммунные цитокины (TNF, IL-1, IL-6, хемокины);
3. цитокины — регуляторы иммунного воспаления (Ify, IL-5, IL-10, IL-12 и др.);
4. цитокины — факторы роста (c-kit-лиганд, GM-CSF, G-CSF, IL-3, IL-7, IL-9, IL-11 и др.).

По основному механизму действия цитокины делят на 5 групп:

1. ростовые факторы, контролирующие гемопоэз, в том числе продукцию иммунокомпетентных клеток;
2. провоспалительные цитокины, обеспечивающие мобилизацию и активацию клеток, принимающих участие в развитии воспаления;
3. противовоспалительные цитокины, ограничивающие развитие инфекционного и воспалительного процесса;
4. иммунные цитокины, регулирующие течение клеточного и гуморального иммунитета;
5. эффекторные цитокины, обладающие противовирусным, цитотоксическим и другими эффектами. В отдельную группу можно выделить цитокины, проявляющие свойства лимфопоэтинов (большая часть интерлейкинов), эозинофилопоэтические цитокины (IL-3, IL-5, GM-CSF) и хемокины или хемоаттрактанты (IL-8, IL-16 и др.) [9].

Цитокины и продолжительность жизни

Известно, что цитокины синтезируются в ответ на стимуляцию продуцирующих их клеток. Уровень экспрессии цитокинов регулируется по механизму отрицательной обратной связи, опосредуемой простагландинами, кортикостероидными гормонами и механизмом саморегуляции. Регуляция экспрессии генов цитокинов контролируется cis-регуляторными элементами, локализованными в промоторе. Установлено, что в состав транскрипционного комплекса большинства интерлейкинов входят факторы

AP-1, GATA-3, Oct1/2, YY1, Ets1 и NF-AT [84].

В настоящее время неопровержимо доказано, что с возрастом значительно изменяется содержание многих цитокинов, играющих ключевую роль в механизме врожденного и адаптивного иммунитета [32]. В частности, установлено, что по мере старения человека существенно падает продукция IL-2, секретируемого преимущественно митоген- или антигена активированными Т-хелперами первого клона (Th1). Уменьшение уровня IL-2 в ответ на стимуляцию приводит к тому, что у пожилых и старых людей снижается функциональная активность Т-клеток, макрофагов, натуральных киллеров (NK) и, как следствие, ухудшается противовирусная, противобактериальная и противоопухолевая защита организма [84].

Следует отметить, что IL-2 является стимулятором синтеза IFN γ цитотоксическими лимфоцитами и NK-клетками. Более того, NK-клетки начинают особенно интенсивно продуцировать IFN γ лишь после взаимодействия с раковыми или зараженными вирусами клетками, и этот эффект усиливается IL-12. Между тем, как показали исследования ряда авторов [32, 64], концентрация IL-2 и IL-12 у пожилых людей значительно падает.

У взрослых больных бронхиальной астмой, по сравнению с детьми, снижено содержание IL-5, что является крайне неблагоприятным фактором для предотвращения и подавления аллергических реакций, а также течения местных воспалительных процессов [12].

Известно, что уровень цитокинов в крови зависит от интенсивности иммунного ответа, возникающего под влиянием различных чужеродных и собственных антигенов организма [9]. К старости число антигенов, воздействующих на наш организм, неуклонно возрастает, что должно сказаться и на содержании цитокинов [34]. Следовательно, сниженная в старости реакция со стороны провоспалительных цитокинов в ответ на действие антигенов является неблагоприятной, способной приводить к развитию патологических состояний и даже летальному исходу.

Согласно данным И. Я. Сукмановой и др. [32], концентрация провоспалительных цитокинов TNF α и IL-1 β у старых людей значительно увеличена. К Nager. et al. [63] еще в 1996 г. при обследовании здоровых испытуемых в возрасте

от 23 до 87 лет выявили линейную корреляцию между уровнем IL-6 и сроком жизни человека: чем выше в крови была концентрация IL-6, тем меньше оказалась продолжительность жизни. При этом за 1 год жизни содержание IL-6 возрастало в среднем на 0,016 пкг/мл крови. Вместе с тем линейно связанными с уровнем IL-6 оказались лишь фибриноген, α_2 -макроглобулин и D-димер, что свидетельствует о значительном усилении внутрисосудистого свертывания крови и торможении фибринолиза.

D. G. Stott et al. [99] изучали взаимосвязь между интенсивностью внутрисосудистого свертывания крови и когнитивными функциями более чем у 5 800 людей в возрасте от 70 до 85 лет. При этом оказалось, что повышение уровня маркеров активации внутрисосудистого свертывания крови, в том числе D-димера и фрагментов протромбина 1 и 2, являются независимыми прогностическими факторами увеличения частоты когнитивных нарушений, ухудшения качества и продолжительности жизни. Особенно интенсивно эта взаимосвязь проявлялась у людей, перенесших инсульт, а также при наличии высокой концентрации IL-6 и С-реактивного белка. Полученные данные в значительной степени обусловлены скрытыми нарушениями мозгового кровообращения.

У старых людей в период отсутствия патологического процесса уровень TNF α значительно повышен [12]. При этом у лиц старше 60 лет отмечается неадекватная реакция со стороны провоспалительных цитокинов на действие патогенных раздражителей. Их концентрация при этом повышается незначительно. Более того, с возрастом у доноров отмечается снижение стимулированными LPS мононуклеарами продукции TNF- β , IL-1 β , IL-6 и IL-17 [27]. Аналогичные сведения получены J. Nyugen et al. [87] на 17 молодых (21–32 года) и 17 пожилых и старых (66–89 лет) людях. Установлено, что у лиц старше 60 лет, по сравнению с молодыми, снижена выработка IL-6 и TNF α , а также ослаблена экспрессия TLR-1 моноцитами.

F. Zhen-Xing et al. [105] через 6 часов после возникновения острого инфаркта миокарда с повышением сегмента ST у 236 больных в сыворотке определяли содержание IL-6, адгезивных молекул ICAM-1, VCAN-2 и растворимого Р-селектина. В течение 3 лет наблюдения

от сердечно-сосудистых заболеваний умерли 34 человека. У погибших больных в момент госпитализации оказалось повышенной концентрация IL-6, тогда как уровень адгезивных молекул оставался в пределах нормы. На основании полученных данных авторы приходят к выводу, что IL-6 является независимым прогностическим фактором смертности от сердечно-сосудистых заболеваний.

Наконец, M. Hartford et al. [66] указывают, что в отдаленном периоде после острого коронарного синдрома существует тесная связь между уровнем IL-18, общей летальностью и смертностью от патологии сердечно-сосудистой системы.

Из представленных данных можно прийти к заключению, что у пожилых людей и лиц старческого возраста исходный уровень провоспалительных цитокинов повышен, тогда как их стимулированная выработка значительно ослаблена.

Не подлежит сомнению, что увеличение концентрации провоспалительных цитокинов в пожилом и старческом возрасте является приспособительной реакцией, направленной на активацию иммунитета и борьбу с заболеваниями, преследующими людей пожилого и старческого возраста. Однако эта реакция имеет и обратную сторону медали. Все без исключения провоспалительные цитокины значительно усиливают процесс свертывания крови и тормозят фибринолиз [4, 5, 16, 23, 55, 56, 61, 76, 90, 91], что при наличии предрасполагающих факторов (атеросклероз, патология сердечно-сосудистой системы, тромбофилии) неминуемо приводит к возникновению тромбоэмболических заболеваний, в том числе инфаркта миокарда и ишемического инсульта.

Существенные изменения в процессе старения претерпевает концентрация IFN γ , синтезируемого в основном цитотоксическими CD8⁺ лимфоцитами, стимулированными антигенами или митогенами, а также NK-клетками (CD3⁺CD16⁺ и CD3⁺CD16⁺). В ранней фазе инфекционного процесса IFN γ практически отсутствует или содержится в незначительной концентрации. Образование IFN γ и его секреция наступает лишь после повторной встречи предварительно сенсibilизированных лимфоцитов с Ag. Этот цитокин не способен непосредствен-

но оказывать влияние на инфекционный агент. Его действие осуществляется главным образом через моноциты, макрофаги, NK-лимфоциты, которые он стимулирует. Кроме того, IFN γ повышает выработку антител, а также приводит к образованию и секреции провоспалительных цитокинов. IFN γ способен резко повышать проницаемость сосудов для макромолекул, а в комплексе с TNF α — индуцировать образование и секрецию хемокинов, обеспечивающих хемотаксис лейкоцитов [39, 40].

С возрастом α крови у людей образование стимулированными митогеном мононуклеарами IFN γ снижается [27, 32]. Более того, Caytanot F et al. [47] показали, что у ночного примата (*Microcebus murinus*) уровень IFN γ коррелирует с продолжительностью жизни животных. На основании проведенных экспериментов авторы приходят к сенсационному выводу, что концентрация IFN γ в плазме может «предсказывать» срок жизни приматов.

Цитокины и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз

Еще в начале восьмидесятых годов прошлого века было доказано, что активация тромбоцитов коллагеном или АДФ сопровождается стимуляцией функции гранулоцитов. Более того, адгезия и агрегация гранулоцитов в значительной степени зависит от числа кровяных пластинок. Оптимальная агрегация нейтрофилов отмечается в том случае, если на 1 лейкоцит приходится 46 тромбоцитов. Если же активность тромбоцитов подавляется ацетилсалициловой кислотой (при этом нарушается образование тромбоксана A₂ – TxA₂), то под влиянием кровяных пластинок усиление адгезии и агрегации нейтрофилов не происходит. Высказано предположение, что активация нейтрофилов осуществляется цитокинами — IL-1, IL-6, IL-8, выделяемыми стимулированными кровяными пластинками [72]. Кроме того, в процессе стимуляции кровяные пластинки способны высвобождать из α -гранул факторы, обладающие хемотаксической активностью по отношению к гранулоцитам: антигепариновый (P4), тромбоцитарный фактор роста (митогенный фактор) и β -тромбоглобулин [14].

Сразу после активации различными стимулирующими агентами тромбоциты человека

способствуют экспрессии молекул межклеточной адгезии на эндотелиоцитах пупочной и подкожной вен, а также вызывают секрецию IL-1, IL-6 и GM-CSF. Предварительная обработка тромбоцитов антителами (Ат) к IL-1 полностью отменяет описанную реакцию. Более того, существует мнение, что IL-1, выделяясь из тромбоцитов, стимулирует синтез и секрецию других цитокинов (IL-6, IL-8, TNF α) и тем самым определяет интенсивность течения воспалительного процесса [67].

Установлено, что IL-1 β , действуя на культуру эндотелия пупочной вены, приводит уже через 4 часа к образованию малых порций IL-8. В градиенте плотности гомогенизированных эндотелиальных клеток можно обнаружить эквимоллярные количества vWF и IL-8, находящихся во фракции, содержащей тельца Вейбл-Паладе. Предполагается, что IL-8 способствует иммобилизации vWF в кислом состоянии и препятствует его высвобождению из мест хранения. Таким образом, IL-8 регулирует секреторную функцию эндотелиальных клеток и, в частности, жестко контролирует поступление vWF в тельца Вейбл-Паладе [43].

По данным S. Nishimura et al [85], IL-1 и TNF α могут способствовать мобилизации vWF на поверхности неповрежденных эндотелиальных клеток, экспрессирующих GpIba, благодаря чему осуществляется адгезия тромбоцитов с последующим формированием тромбоцитарных агрегатов. В то же время этот эффект может быть ингибирован антагонистами GpIba.

В опытах *in vitro* показано, что тромбоциты в совместной культуре с клетками гладких мышц сосудов (КГМС) человека активируют образование IL-6 и IL-8, а также вызывают пролиферацию мышечных волокон. Выработка этих цитокинов индуцируется IL-1 тромбоцитарного происхождения. По-видимому, взаимодействие тромбоцитов с КГМС играет важную роль в возникновении локальных васкулитов, что может приводить к развитию тромбов, адгезии и агрегации тромбоцитов [78].

Адгезия тромбоцитов к сосудистой стенке способна возрасть в результате повреждающего действия цитокинов на эндотелий. Так, активированные IL-2 натуральные киллеры (NK), получившие наименование LAK (лимфокин-активированные киллеры), обладают повышен-

ной адгезией к эндотелиоцитам. Установлено, что среда, в которой находятся LAK-клетки, через 48 часов приобретает токсические свойства по отношению к эндотелию пупочной вены человека. Рекombинантный TNF и INF γ в высоких концентрациях также оказывают повреждающее действие на эндотелий. Ат к TNF α и INF γ частично или полностью подавляют влияние всех перечисленных травмирующих агентов на эндотелиоциты. Не исключено, что разрушение эндотелия и увеличение в связи с этим адгезии тромбоцитов к поврежденной поверхности в присутствии IL-2 может происходить за счет продукции LAK-клетками TNF α и INF γ [38].

В цельной обедненной лейкоцитами крови при добавлении любого из индукторов — коллагена, тромбина, АДФ, соединения U46619 или фактора, активирующего тромбоциты (PAF), — агрегация кровяных пластинок усиливается. Если же в крови содержатся лейкоциты, то при тех же условиях агрегация тромбоцитов снижается. Гипоагрегационный эффект при внесении индукторов в этих экспериментах обусловлен присутствием нейтрофилов, уменьшающих высвобождение из кровяных пластинок β -TG. По всей видимости, ингибирующее действие нейтрофилов обусловлено, с одной стороны, способностью поглощать АДФ, а с другой — приводить к освобождению из тромбоцитов факторов, препятствующих их агрегации, а также тормозить секрецию β -TG [103]. Между тем сами нейтрофилы активируются под воздействием IL-1, IL-3, TNF α , INF γ и других цитокинов. Следовательно, действие лейкоцитов на агрегацию кровяных пластинок может быть опосредовано различными цитокинами.

В эксперименте установлено, что при длительном (в течение трех дней) контакте эндотелиальных клеток с тромбином, IL-1, TNF α или INF γ тромбоцитарная адгезия к субэндотелиальному матриксу значительно уменьшается. При этом одновременно отмечается снижение в матриксе фибронектина и vWF. Последнее может быть обусловлено поступлением указанных белков из клеток эндотелия в культуральную среду, а не в матрикс субэндотелия [49, 50]. Так, по мнению S. Zarei et al. [102], агонистами, приводящими к выходу vWF из мест хранения в эндотелии, являются IL-1, TNF, тромбин, эндотоксин, гистамин, ионофор A-23187 и др.

Известно, что интактный эндотелий выделяет Pgl_2 и оксид азота (NO), являющиеся мощными дезагрегантами. В то же время под воздействием IL-1 эндотелиоциты, полученные из различных сосудов, и клетки гладких мышц аорты дозозависимо продуцируют Pgl_2 и NO. Пик синтеза Pgl_2 наблюдается через 12–18 часов с момента внесения в культуру IL-1 [41, 51]. При усилении экспрессии гена, ответственного за продукцию iNOS, под воздействием IL-1, TNF α , ЛПС, Ify и др. клетки-продуценты выделяют в тысячу раз больше NO, чем под влиянием eNOS [24].

При стимуляции макрофагов грамположительными бактериями только рекомбинантный Ify повышает продукцию NO. Таким действием не обладали IL-10 и трансформирующий фактор роста β (TGF β). В первичной культуре эмбриональных астроцитов в ответ на добавление IL-1 β через 5 суток продукция NO возрастает максимально [73], что должно препятствовать агрегации тромбоцитов.

Аналогичные факты обнаружены и другими исследователями. Так, инкубация кольцевых фрагментов брюшной аорты крыс линии Вистар в присутствии IL-1 β стимулировала образование NO. В лишенных эндотелия фрагментах синтез NO был более интенсивным. Присутствие ангиотензина II блокировало этот эффект [81].

IL-1 и IL-2, будучи добавленными в различных дозах непосредственно к крови человека, не оказывали непосредственного влияния на адгезию и агрегацию тромбоцитов. Вместе с тем среда роста двухчасовой культуры лимфоцитов, предварительно инкубированных с IL-1 (конечная концентрация 2 нг/мл), на ранних стадиях угнетала адгезию тромбоцитов, полностью препятствуя на 1-й минуте прилипанию кровяных пластинок к коллагену. К началу 3-й минуты в присутствии среды роста способность к адгезии сохраняли лишь 25% тромбоцитов и только к концу 4-й и в начале 5-ой минуты адгезия кровяных пластинок достигала максимальных величин, хотя несколько уступала результатам, выявленным в контроле. Предварительное внесение в культуру МонАТ против IL-1 полностью устраняло ингибирующее влияние культуральной среды на адгезию тромбоцитов к коллагену [4, 5, 7, 14].

В присутствии малых доз АДФ (10^{-7} М) и

среды роста двухчасовой и суточной культуры лимфоцитов, инкубированной с IL-1, кривая агрегации тромбоцитов оказалась значительно ниже контрольной. Предварительное внесение МонАТ к IL-1 и в этой серии приводило к нормализации агрегационной активности кровяных пластинок. IL-1 в присутствии средней дозы АДФ (10^{-5} М) значительно снижал первую и полностью блокировал вторую волну агрегации тромбоцитов. При этом в опыте всегда наблюдалась спонтанная дезагрегация кровяных пластинок, что свидетельствовало об отсутствии реакции высвобождения тромбоцитов. Если же в культуру вносились Ат против IL-1, то кривая агрегации не отличалась от контрольной [4, 7, 14, 22, 23].

При использовании в качестве индуктора больших доз АДФ (10^{-3} М) ингибция агрегирующей активности тромбоцитов в большей мере проявлялась при внесении среды роста, полученной после 24-х часовой инкубации культуры лимфоцитов с IL-1. И в этих опытах МонАТ против IL-1 полностью блокировали обнаруженную реакцию.

Аналогичные результаты получены с лимфоцитами, выделенными из фибринового сгустка и фибринолизной крови. В то же время в последнем случае IL-1, воздействуя на лимфоциты, слабее ингибировал адгезию и агрегацию кровяных пластинок.

Угнетение адгезии и агрегации тромбоцитов средой роста, в которой лимфоциты инкубировались с IL-1 или IL-2, обусловлено усилением синтеза NO лейкоцитами [4].

IL-1 β , TNF α , INF α и INF γ способствуют ускоренному поступлению и повышению концентрации L-аргинина в клетках, синтезирующих NO. Противоположное действие оказывают IL-4 и IL-10, повышающие активность аргиназ и тем самым приводящие к снижению уровня аргинина, а следовательно, и синтеза NO [53]. Вместе с тем тромбин препятствует экспрессии NO, индуцируемой при активации NO-синтетазы IL-1 в культуре гладкомышечных клеток аорты и, следовательно, выступает в роли эндогенного регулятора NO-синтетазы [95].

Приведенные факты косвенно подтверждают и другие экспериментальные данные. Обработка островков Лангерганса IL-1 β сопровождается повышением продукции оксида азота.

Эффект зависит от дозы и достигает максимума при концентрации IL-1 β , соответствующей 5 ед/мл. IL-1 β при дозе 0,1 ед/мл и INF γ — 150 ед/мл при раздельном использовании не влияют на экспрессию синтазы оксида азота и продукцию NO $_2^-$. Совместно действие IL-1 β (при концентрации 0,1 ед/мл) и INF γ (в концентрации 150 ед/мл) на островки Лангерганса приводит к экспрессии синтазы NO и усилению выработки оксида азота [68].

Установлено, что инкубация эндотелиальных клеток в присутствии TNF α приводит к уменьшению жизнеспособности эндотелиоцитов. Но если усиливается образование оксида азота, то эта реакция защищает эндотелиальные клетки от действия TNF α . В то же время ингибитор аденилатциклазы 2/5/-дидезоксиаденозин полностью подавляет цитопротекторный эффект донора NO. Следовательно, одним из путей действия NO может быть цГМФ-зависимое ингибирование распада цАМФ [33].

NO не только препятствует активации цитокинами синтеза адгезивных молекул на поверхности эндотелия, но и уменьшает продукцию хемокинов, выход моноцитов из сосудистого русла и их превращение в макрофаги и тем самым проявляет противовоспалительный ответ [63].

Стимулированные моноциты и макрофаги продуцируют значительно число цитокинов, в том числе IL-1 α , IL-1 β и IL-8. Воздействуя непосредственно на эндотелиальные клетки, моноциты модулируют синтез и секрецию PGI $_2$. Добавление моноцитов к культивируемым на коллагеновой основе эндотелиальным клеткам пупочной вены человека приводит как к усиленному синтезу PGI $_2$, так и к высвобождению vWF. Обнаруженные эффекты во многом определяются числом вносимых моноцитов и их временем инкубации с биологически активными соединениями, выделяемыми мононуклеарами. IL-1 α и IL-1 β также увеличивают синтез PGI $_2$ эндотелиальными клетками, однако этот эффект, по сравнению с прямым воздействием моноцитов, относительно слаб [45].

R. C. Newton [83] указывает, что IL-1, будучи добавленным к культуре эндотелиальных клеток или фибробластов, более чем в 50 раз увеличивает уровень PGE $_2$. Известно, что последний в малых дозах способствует усилению агрегации

тромбоцитов, а в больших — подавляет ее [36, 37]. Следовательно, *in vivo* эффект от воздействия IL-1 будет зависеть от его концентрации в крови, а также от влияния других агрегантов и дезагрегантов, выделяемых сосудистой стенкой, тромбоцитами и лейкоцитами. Провоспалительный цитокин IL-18 способен усиливать синтез PGE $_2$, а также противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-12 [74], стимулирующих антиагрегантные и антикоагулянтные механизмы [6, 8, 14]. Имеются данные, что под воздействием IL-18 усиливается Ify-зависимая продукция NO [74].

Под влиянием TNF усиливается синтез TxA $_2$ и TxB $_2$ макрофагами, что способствует агрегации тромбоцитов [100].

Таким образом, согласно мнению большинства исследователей [41, 43, 53, 73, 74, 81, 94], провоспалительные цитокины (IL-1 α , IL-1 β , TNF α , Ifa, Ify) повышают продукцию NO и PGI $_2$ лейкоцитами и эндотелиальными клетками, благодаря чему должны способствовать дезагрегации тромбоцитов.

Данные о влиянии различных цитокинов на синтез одного из главных факторов адгезии и агрегации тромбоцитов — vWF — достаточно противоречивы. Работами E. M. Paleolog et al. [92, 93] установлено, что IL-1 и TNF практически не оказывают влияния на продукцию vWF эндотелиальными клетками пупочной вены человека. В то же время, если в культуру эндотелиальных клеток с IL-1 через 24 часа после инкубации вносят TNF α и тромбин, то высвобождение vWF значительно уменьшается, хотя существенных изменений в содержании его мРНК не наблюдается. Иные сведения получены Schorer A. E et al. [96], показавшими, что при инкубации эндотелиальных клеток с IL-1 происходит выброс vWF и одновременное усиление агрегационной активности кровяных пластинок. Авторы высказывают предположение, что медиаторы воспаления через vWF повышают риск возникновения тромбозов.

Следует заметить, что природный и рекомбинантный IL-1 оказывает противоположное влияние на синтез и секрецию факторов, принимающих участие в свертывании крови и сосудисто-тромбоцитарном гемостазе. В частности, эндотелиальные клетки, выделенные из пупочной вены, в ответ на внесение частично

очищенного природного IL-1 человека, содержащего α и β -фракции, усиленно синтезируют PGI₂, фактор активации тромбоцитов (PAF), тканевой фактор (TF) и ингибитор активатора плазминогена 1 (PAI-1). В то же время высокоочищенный природный или рекомбинантный IL-1 в тех же самых условиях и дозах стимулирует лишь продукцию TF и PGI₂ и не влияет на синтез PAF. Рекомбинантный IL-1 человека по своим свойствам не отличался от частично очищенного природного IL-1. Однако рекомбинантный IL-1 мышей стимулирует синтез PGI₂ и PAF, но не влияет на продукцию TF и PAI-1 эндотелиальными клетками [41].

Интенсивный синтез и секреция PAF осуществляется под воздействием тромбина, ионофора A-23187, ангиотензина II, IL-1, TNF α , вазопрессина, а возможно, и других сосудосуживающих соединений. Напомним, что PAF является мощным индуктором образования TxA₂ и цитокинов (IL-1, IL-6, TNF α), осуществляемого преимущественно лейкоцитами [36]. В свою очередь провоспалительные цитокины, по данным С. Т. Esmon [55, 56], способствуют активации и усилению прокоагулянтной активности тромбоцитов, а также повышают чувствительность кровяных пластинок к тромбину, что ведет к значительному усилению их агрегационной функции.

Согласно сведениям, полученным J. C. Giddings, L. Shall [59], IL-1, воздействуя на культуру эндотелиальных клеток пупочной вены человека, значительно повышал в окружающей среде содержание vWF и его антигена, что особенно резко проявлялось к 5–6-му дню. При этом структура Ag vWF в эндотелиальных клетках при инкубации с IL-1 была менее зернистой, чем в контроле. В то же время IL-2 не оказывал влияния на содержание vWF и его Ag ни в самих эндотелиальных клетках, ни в супернатанте исследуемой культуры. Более того, K. Frasier-Scott et al. [58] пришли к выводу, что IL-2 резко увеличивает синтез PGI₂ эндотелиальными клетками пупочной вены человека и бычьей аорты, но не влияет на образование vWF и t-PA. Применение белкового блокатора циклогексимида полностью отменяло действие IL-2 на синтез простагличина.

За последние годы особое внимание исследователей привлекает IL-17, образуемый макрофагами и Т-хелперами (Th-17). Под его воздей-

ствием усиливается экспрессия межклеточных адгезивных молекул и, в частности, ICAM-1 в фибробластах, а также стимулируются эндотелиальные и эпителиальные клетки. Предполагается, что IL-17 поддерживает в течение длительного времени (до 24 часов) воспалительный процесс, хотя и не является его инициатором [101].

Оказалось, что под влиянием IL-17 макрофаги человека усиленно синтезируют и выделяют провоспалительные цитокины — IL-1 β и TNF α . Максимальный эффект при этом отмечается приблизительно через 9 часов после начала инкубации макрофагов с рекомбинантным IL-17. Кроме того, IL-17 стимулирует синтез и выделение IL-6, IL-10, IL-12, PGE₂, антагониста RIL-1 и стромализина. Противовоспалительные цитокины — IL-4 и IL-10 — полностью отменяют вызываемое IL-17 выделение IL-1 β , а GTF β ₂ и IL-13 лишь частично блокируют этот эффект. IL-10 подавляет индуцируемое высвобождение TNF α , тогда как IL-4, IL-13 и GTF β ₂ в меньшей степени супрессируют секрецию данного цитокина. Представленные факты убедительно свидетельствуют о том, что IL-17 должен играть важную роль в поддержании воспалительного процесса и атеросклероза [101].

Немаловажная роль принадлежит IL-17 в разрушении коллагена и хрящевой ткани. В субоптимальных дозах IL-17 оказывает мощное синергическое действие с TNF α , IL-1, IL-6 и онкостатином M на разрушение коллагена. Этому процессу препятствуют IL-4 и IL-13 [82].

IL-17 усиливает синтез NO, воздействующего на течение многих физиологических функций в том числе и являющегося мощным дезагрегантом.

В то же время в литературе имеются сведения, что IL-17 способен усиливать агрегацию тромбоцитов. Так, предварительная инкубация кровяных пластинок человека или мыши C57BL/6 с IL17A в течение 2 минут при температуре 37°C и последующем внесении АДФ приводит к экспрессии на мембране тромбоцитов сайтов связывания фибриногена и Р-селектина (CD62P), что сопровождается усиленным образованием агрегатов. Обнаруженная реакция обусловлена более быстрой кинетикой фосфорилирования Erk-2 под воздействием АДФ. Аналогичная реакция не наступает при использова-

нии в качестве индуктора коллагена. У мышей с дефицитом рецептора IL17 АДФ не оказывал воздействия на агрегацию тромбоцитов.

Высказывается предположение, что блокада рецепторов IL17 способна привести к снижению риска возникновения сердечно-сосудистых катастроф при аутоиммунной патологии [80]. Не исключено, что IL-17 принадлежит определенная роль в развитии гиперкоагуляции (а возможно, и ДВС) при сепсисе [52].

Установлено, что при стабильной и нестабильной стенокардии, а также у больных с острым инфарктом миокарда и постоянными болями за грудиной содержание IL-17 резко повышено. У пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) выявлены маркеры активации тромбоцитов (CD62P/PAC-1). Более того, у больных нестабильной стенокардией и острым инфарктом миокарда уровень IL-17 был особенно резко повышен, а агрегация пластинок осуществлялась наиболее интенсивно. Если инкубировать с IL-17 кровяные пластинки, полученные от больных с ОКС, то агрегация кровяных пластинок, CD62P/PAC-1 и сигнальный путь фосфорилирования ERK2 резко усиливаются. Специфический ингибитор ERK2 предотвращает действие IL-17 на активацию и агрегацию тромбоцитов. Предполагается, что ингибиторы сигнального пути ERK2 могут быть использованы для подавления усиленной агрегации тромбоцитов при ИБС [104].

Следует заметить, что IL-17, как и TNF α , усиливает экспрессию TF на эндотелии, одновременно уменьшая концентрацию тромбомодулина, и тем самым способствует развитию предтромботического состояния. Особенно интенсивно эта реакция протекает при одновременном действии IL-17 и TNF α [70].

В настоящее время доказано, что основной причиной развития тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП) является низкая активность металлопротеиназы ADAMTS-13, разрывающей гигантские мультимеры vWF. При этом отмечается значительное увеличение концентрации провоспалительных цитокинов – TNF α , If γ , а также противовоспалительного цитокина IL-4. Между тем в опытах, проведенных *in vitro*, показано, что TNF α , If γ и IL-4 при 24-часовой инкубации в среде, содержащей крысинные клетки Купфера или эндотелиальные клетки,

выделенные из пупочной вены человека, дозозависимо снижают содержание (или активность) ADAMTS-13 и его секрецию в культуральную среду, тогда как концентрация vWF в них практически не менялась. Следовательно, уменьшение секреции металлопротеиназы ADAMTS-13 должно способствовать усилению агрегации тромбоцитов. В то же время инкубация TNF α , If γ и IL-4 с очищенным рекомбинантным ADAMTS-13 не оказывала непосредственного влияния на расщепление мультимеров vWF. Вместе с тем эти опыты не исключают возможности воздействия провоспалительных цитокинов и IL-4 на способность ADAMTS-13 расщеплять vWF в условиях кровотока [46]. Более того, при обострении ТТП авторы рекомендуют применять кортикостероиды для ослабления воспалительного эффекта и воздействия на уровень провоспалительных цитокинов с целью снижения их концентрации. Представленные факты согласуются с исследованиями A. Bernardo et al. [42], показавшими, что IL-6 блокирует способность ADAMTS-13 расщеплять «необычно крупные» (unusually large) мультимеры vWF (UL-vWF), фиксированные на эндотелиальных клетках, а также ослабляет их выделение из эндотелиоцитов. В то же время IL-8 и TNF α дозозависимо стимулируют образование эндотелиальными клетками UL-vWF и тем самым усиливают агрегацию кровяных пластинок. К сказанному следует добавить, что у детей с септическими заболеваниями нередко проявляется недостаточная способность ADAMTS-13 расщеплять UL-vWF. Более того, существует тесная взаимосвязь между активностью ADAMTS-13, повышенной адгезивной и агрегационной функцией тромбоцитов и концентрацией IL-6 в крови [86, 87].

Полученные данные не только проливают свет на один из механизмов патогенеза тромботической тромбоцитопенической пурпуры, но и позволяют расширить наши представления о причинах усиления агрегационной активности тромбоцитов при воспалительных, инфекционных, онкологических и других заболеваниях, когда содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов значительно возрастает.

Известно, что нейтрофилы содержат катепсины, в том числе катепсин G. Под воздействием TNF α и PAF катепсин G высвобождается

из нейтрофилов и выходит на их поверхность, благодаря чему его содержание на мембране клетки увеличивается в 2–3 раза. При этом нейтрофилы приобретают чрезвычайно высокую чувствительность (она возрастает в 15–25 раз) к хемоаттрактанту FMLP. Предполагается, что одновременно при этом возрастает фагоцитарная активность лейкоцитов [85]. Но катепсин G может элюироваться с поверхности лейкоцитов и оказывать непосредственное действие на активацию тромбоцитов, а также способствовать ускорению свертываемости крови.

За последние два десятилетия как за рубежом, так и в нашей стране с терапевтической целью, главным образом при онкологических заболеваниях, стал применяться IL-2. При этом в отдельных случаях отмечается тромбоцитопения и появление кровоизлияний. Оказалось, что IL-2 после 10-минутного контакта с тромбоцитами резко понижает их агрегацию. Более того, IL-2 вызывает высвобождение из кровяных пластинок TxA_2 , PgI_2 и других простагландинов. Детальное изучение этого явления позволило установить, что IL-2 не действует непосредственно на тромбоциты, а оказывает влияние через мононуклеары, ибо удаление последних усиливает агрегацию кровяных пластинок [88, 89]. Кроме того, развитие тромбоцитопении после инъекций IL-2 может быть связано с наличием диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС) и потреблением кровяных пластинок, что, в частности, наблюдается у больных злокачественными новообразованиями [1, 2, 3, 19, 21, 22, 25, 57, 79].

Исследованиями, проведенными А. В. Lentsch et al. [77], установлено, что в процессе терапии IL-2 наступает активация не только тромбоцитов, но и эндотелия. При этом IL-2 способствует тромбообразованию, сокращая сроки появления фибриновых сгустков. *In vitro* под влиянием IL-2 наступает повреждение кровяных пластинок и усиление их агрегации. При длительном воздействии IL-2 не отмечается наступление дезагрегации тромбоцитов.

Взаимодействие кровяных пластинок с эндотелием под влиянием IL-2 осуществляется за счет экспрессии адгезивной молекулы LVA-1, что способствует формированию тромбов в зоне микроциркуляции при воспалении.

На адгезию тромбоцитов может оказывать

влияние IL-10. Так, в условиях нормы к эндотелию способны прилипать лишь единичные кровяные пластинки. После контакта с IL-10 число адгезируемых к эндотелию тромбоцитов значительно возрастает. По всей видимости, эта реакция обусловлена деградацией эндотелиальных клеток, вызываемых цитокином [44]. Добавление рекомбинантного IL-10 в культуру макрофагальной клеточной линии J774 приводит одновременно к увеличению синтеза NO и снижению продукции TNF α . Нейтрализация эндогенных IL-соединений изменяет их функции, в том числе и восприятие действия цитокинов. Как будут влиять различные цитокины 10, секретируемого макрофагами, предварительно активируемыми липополисахаридом (ЛПС), подавляет образование NO. По всей видимости, IL-10, благодаря воздействию на синтез NO, способен регулировать тонус сосудов и агрегацию тромбоцитов [71, 72].

Липополисахарид (ЛПС) значительно усиливает синтез PgE_2 , активность циклооксигеназы-2 и содержание ее мРНК в культуре моноцитов здоровых людей. Однако эта реакция подавляется под воздействием IL-4, IL-10 или IL-13. В то же время противовоспалительные цитокины не оказывают воздействия на активность циклооксигеназы-1, содержание которой в моноцитах также возрастает под влиянием ЛПС [54].

Сведения о влиянии интерферонов на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз немногочисленны. Установлено, что под влиянием INF γ не только уменьшается число тромбоцитов в кровотоке, но и снижается и их агрегационная активность. По всей видимости, эта реакция обусловлена ослаблением экспрессии GpIIb/IIIa на кровяных пластинках [94]. Однако полученные в указанных экспериментах данные могут найти и другое объяснение. Известно, что под воздействием IF γ усиливается течение оксидативных процессов, возрастает продукция NO-оксигеназы и тем самым образование NO, обладающего антиагрегационным действием [10].

Все представленные данные свидетельствуют о том, что цитокинам принадлежит существенная роль в регуляции сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Однако этот эффект во многом зависит от условий эксперимента, применяемых цитокинов, используемых

дозировок, а также других многочисленных побочных факторов.

К сожалению, большинство опытов по изучению действия цитокинов на состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза проводилось в экспериментах *in vitro*. *In vivo* в циркуляции на форменные элементы крови и эндотелий сосудистой стенки одновременно действует неисчислимо количество биологически активных соединений. Однако до сих пор то, как при увеличении их концентрации в кровотоке изменяется агрегация тромбоцитов при различных физиологических и патологических состояниях, практически не изучалось.

Вместе с тем клинические данные говорят о том, что провоспалительные цитокины стимулируют, а противовоспалительные — ингибируют сосудисто-тромбоцитарный гемостаз. Так, согласно данным Y. Hirashima et al. [69], у больных с субарахноидальными кровоизлияниями в крови, полученной из внутренней яремной вены, резко повышается концентрация провоспалительных цитокинов — TNF α , IL-1, IL-6 и PAF. Одновременно у таких больных возникает гиперкоагуляция и увеличивается содержание vWF, что, по мнению авторов, обусловлено действием провоспалительных цитокинов.

A. M. Gori et al. [60] на 208 больных с острым коронарным синдромом, подвергнутых вмешательству, изучили реакцию тромбоцитов на действие антиагрегантной терапии с использованием в качестве лигандов агрегации арахидоновую кислоту и АДФ. Оказалось, что при резком преобладании провоспалительных цитокинов над противовоспалительными риск развития резистентности к антиагрегантам у больных, по сравнению с пациентами со сбалансированным соотношением про/противовоспалительных цитокинов, был гораздо выше. Пациенты с преобладанием противовоспалительных цитокинов над провоспалительными имели наиболее низкий риск развития резистентности к дезагрегантам.

У больных острым гемобластозом резкое увеличение концентрации IL-1, IL-8 и растворимой сосудистой клеточной молекулы адгезии-1 (sVCAM-1) коррелировало с повышенным содержанием маркеров активации кровяных пластинок — CD62P, CD63 — и числом тромбоцитарных микровезикул. В процессе предпринятой

терапии уровень провоспалительных цитокинов снижался, что приводило к значительному уменьшению количества тромбоцитарных микровезикул, а также маркеров активации CD62P, CD63 [98]. Авторы работы приходят к заключению, что повышение уровня провоспалительных цитокинов наряду с увеличением числа тромбоцитарных везикул у больных со злокачественными заболеваниями крови являются факторами риска развития ДВС-синдрома.

Следует особо отметить, что стимулированные LPS тромбоциты (что, в частности, отмечается при сепсисе) способны активировать моноциты и макрофаги, в результате чего эти клетки начинают усиленно секретировать провоспалительные цитокины — IL-1, IL-6, IL-23, TNF α и другие [97], благодаря чему наступает активация тромбоцитов, их усиленная агрегация, а также экспрессия TF эндотелиоцитами и лейкоцитами, и развивается ДВС-синдром [14, 48, 61, 62, 63].

Вместе с тем, как показывают многочисленные наблюдения, проведенные в стенах Читинской государственной медицинской академии, при воспалительных, инфекционных, хирургических, аутоиммунных и онкологических заболеваниях адгезия и агрегация тромбоцитов в большинстве случаев значительно возрастает. Уменьшение способности кровяных пластинок образовывать агрегаты при указанных патологических состояниях под воздействием различных лигандов происходит лишь в том случае, если имеется исходная высокая спонтанная агрегация тромбоцитов. Одновременно при этом наблюдается резкое увеличение в периферической крови уровня провоспалительных цитокинов — IL-1 α , IL-1 β , IL-8, TNF α и др. [5, 7, 14, 17, 20, 21, 76]. Не вызывает сомнений, что в усилении адгезии и агрегации тромбоцитов при сердечно-сосудистых, инфекционных, воспалительных, онкологических и других заболеваниях провоспалительным цитокинам принадлежит далеко не последняя роль [1, 2, 14, 64, 65, 79, 98].

При ликвидации воспалительного процесса концентрация провоспалительных цитокинов резко уменьшается, тогда как уровень противовоспалительных может возрастать. При этом, как правило, наблюдается нормализация (или тенденция к нормализации) агрегационной функции тромбоцитов.

Список литературы

1. Балуда, В. П., Балуда, М. В., Тлепушков, И. К., Цыб, А. Ф. Рак и тромбоз. Москва — Обнинск, 2001. 154 с.
2. Баркаган, З. С. Патогенез и терапия нарушений гемостаза у онкологических больных // Терапевтический архив. 1997. Том 69, № 7. С. 65–67.
3. Баркаган, З. С. Момот, А. П. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома // Вестник гематологии, 2005. – № 2. – С. 3–15.
4. Витковский, Ю. А., Кузник, Б. И. Влияние интерлейкина-1 на способность лимфоцитов выделять факторы, влияющие на адгезию и агрегацию тромбоцитов, свертывание крови и фибринолиз // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2002. Т. 88, № 4. С. 468–75.
5. Витковский, Ю. А., Кузник, Б. И., Говорин, А. В., Жеребцова, С. В. и др. Система гемостаза, лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения, белки острой фазы, воспалительные цитокины у больных с различными формами ишемической болезни сердца // Тромбоз, гемостаз, реология. — 2009. — № 1. — С. 49–63.
6. Витковский Ю. А., Кузник Б. И., Солпов А. В., Еделев Д. А. Блокировка интерлейкинов 4 и 10 изменяет гемостатические свойства лимфоцитов // Иммунология. – 1999. – № 5. – С. 20–3.
7. Витковский Ю. А., Солпов А. В., Шенкман Б. З., Кузник Б. И. Влияние интерлейкинов 1 β , 2, 10 и 16 на взаимодействие лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов с экстрацеллюлярным матриксом // Иммунология. 2006. № 3. 141–3.
8. Еделев Д. А., Витковский Ю. А., Кузник Б. И. Влияние интерлейкинов 4 и 10 на свертываемость крови и фибринолиз // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2002. – № 3. – С. 27–30.
9. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. Санкт-Петербург: Фолиант, 2008. 550 с.
10. Киселев О. И., Ершов Ф. И. Интерферон гамма: новый цитокин в клинической практике. Интерферону 50 лет // Матер. научной конференции (Под редакцией академика Ф.И. Ершова). – М., 2007. – С. 15–46.
11. Козлов В. А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов. Цитокины и воспаление. 2002. № 1. С. 5–8.
12. Кудряшова И. А., Полунина О. С. Сравнительное изучение продукции провоспалительных цитокинов при внебольничной пневмонии в разные сроки заболевания в зависимости от возраста пациентов // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 12 – С. 113–114.
13. Кузник Б. И. Взаимосвязи иммунитета и гемостаза в эксперименте и клинике // Четвертая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» М., 2009. С. 267–9.
14. Кузник Б. И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита Экспресс Издательство. 2010. 832 с.
15. Кузник Б. И., Васильев В. Н., Цыбиков Н. Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М.: Медицина, 1989. 320 с.
16. Кузник Б. И., Витковский Ю. А. Иммунный ответ и система гемостаза. – В сб.: Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза. – Барнаул, 2000. – С. 119–27.
17. Кузник Б. И., Лиханов И. Д., Цепелев В. Л., Сизоненко В. А. Теоретические и клинические аспекты биорегулирующей терапии в хирургии и травматологии. – Новосибирск: Наука, 2008. – 312 с.
18. Кузник Б. И., Ложкина А. Н. Взаимосвязь системы комплемента, калликреин-кининовой системы и системы гемостаза. В кн.: Балуда В. П. и др. Физиологические системы гемостаза. М., 1995. С. 150–60.
19. Кузник Б. И., Михайлов В. Д., Альфонсов В. В. Тромбогеморрагический синдром в онкогинекологии. Томск: Из-во Томского университета, 1982. 168 с.
20. Кузник Б. И., Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Цитомедины. Санкт-Петербург: Наука, 1998. 320 с.
21. Кузник Б. И., Пинелис И. С., Хавинсон В. Х. Применение пептидных биорегуляторов в стоматологии. – Санкт-Петербург, 1999. – 142 с.
22. Кузник Б. И., Хавинсон В. Х., Витковский Ю. А. и др. Применение пептидных биорегуляторов в хирургии и онкологии. – Чита, 2001. – 353 с.
23. Кузник Б. И., Цыбиков Н. Н., Витковский Ю. А. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма // Тромбоз, гемостаз и реология. 2005. № 2. С. 3–16.
24. Марков Х. М. Оксидный стресс и дисфункция эндотелия // Патол. физиол. – 2005. – Т. 4. – С. 5–10.

25. Момот А. П., Мамаев А. Н. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома // Клиническая онкогематология, январь-март 2008 г. – Т. 1, – № 1. – С. 63–71.
26. Пальцев М. А., Иванов А. А., Северин С. Е. Межклеточные взаимодействия. М. Медицина. 2003. 288 с.
27. Рыжикова Ю. В., Дружинина Ю. Г., Рябичева Т. Г. и др. Новый набор реагентов для культивирования и митогенной активации клеток цельной крови // «Новости «Вектор-Бест». 2009. № 4. С. 4–12
28. Симбирцев А. С. Интерлейкин 8 и другие хемокины. Иммунология. 1998. № 4. С. 9–13.
29. Симбирцев А. С. Цитокины — новая система защитных реакций организма. Цитокины и воспаление. 2002. № 3. С. 9–17.
30. Симбирцев А. С. Роль цитокинов в регуляции физиологических функций иммунной системы. Физиология и патология иммунной системы. 2004. № 10. С. 3–9.
31. Симбирцев А. С. Клиническое применение препаратов цитокинов. Иммунология. 2004. № 4. С. 247–251.
32. Сукманова И. А., Яхонтов Д. А., Поспелова Т. И. и др. Клиническая картина, морфофункциональные параметры и функция эндотелия у пациентов с систолической ХСН разных возрастных групп // Цитокины и воспаление. 2010. № 3. С. 30–34.
33. Титов В. Н. Диагностическое значение эндотелий-зависимой вазодилатации // Клин. лаб. диагностика. – 2009. – № 2. – С. 3–16.
34. Хаитов Р. М., Физиология иммунной системы. М. Изд-во ВИНТИ РАН. 2005. 428 с.
35. Цыбиков Н. Н., Кузник Б. И. Иммунный механизм регуляции системы гемостаза // Пробл. гематол. и перелив. крови. 1986. № 2. С. 23–8.
36. Шитикова А. С. Тромбоцитарный гемостаз. – Санкт-Петербург, 2000. – 225 с.
37. Шитикова А. С. Тромбоцитопатии врожденные и приобретенные. – Санкт-Петербург, 2008. – 384 с.
38. Amador J.-F., Vazquez A.M., Cabera L., Barral A.M., Gendelman R., Jondal M. Toxic effects of interleukin-activated lymphocytes of vascular endothelial cells // Natur. Immun. and Cell Growth Regul. – 1991. – V. 10, N 4. – P. 207-15.
39. Balkwill F.R. Cytokine cell biology. Oxford University press. 2001. 520 p.
40. Baron S., Tying S., Fleschmann W. et. al. The interferons mechanisms of action and clinical applications. JAMA. 1991. V. 266. P. 1375–1384.
41. Belch J.J.F., Shapiro D., Shehkin A. Marker Proteins Inflammation. – Berlin; N.Y., 1986. – P. 41-2.
42. Bernardo A., Ball C., Nolasco L. et al. Effect of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow // Blood. – 2004. – V. 104. – P. 100-6.
43. Bierings R., van den Biggelaar M., Kragt A. et al. Efficiency of von Willebrand factor-mediated targeting of interleukin-8 into Weibel-Palade bodies // J. Thromb. Haemost. – 2007. – V. 5, № 12. – P. 2512-19.
44. Bujan J., Bellon J.M., Gimeno M.G. et al. Altas de contracciones de interleucina-1 inducen dano sobre el endotelio vascular // Angiologia. – 1996. – V. 48, № 6. – P. 257-64.
45. Busch G.H., Seitz I., Steppich B. et al. Coagulation factor Xa stimulates interleukin-8 release in endothelial cells and mononuclear leukocytes // Arteriosclerosis, Thrombosis, and vasc. Biol. – 2005. – N 2. – P. 461-5.
46. Cao W.J., Niiya M., Zheng X.W. et al. Inflammatory cytokines inhibit ADAMTS-13 synthesis in hepatic stellate cells and endothelial cells // J. Thrombosis and Haemostasis. – 2008. – N 7. – P. 1233-5.
47. Caytanot F., Nygard M., Perret M. et al. Plasma levels of interferon γ correlate with age-related disturbances of circadian rhythm and survival in a non-human primate // Chronobol. Int. 2009. – V. 26. № 8. P. 1587-1601.
48. Chen D., Dorling A. Critical roles for thrombin in acute and chronic inflammation // J. Thromb. Haemost. – 2009. – V. 7. Suppl. 1. – P. 122-6.
49. De Groot Ph.G., Verweij C.L., Nawroth P.P. Interleukin-1 inhibits the synthesis of von Willebrand factor in endothelial cells // Arteriosclerosis. – 1987. – N 7. – P. 605-11.
50. De Groot Ph.G., Sixsma J.J. Annotation. Platelet adhesion // Brit. J. Haematol. – 1990. – V. 75, N 3. – P. 308-12.
51. Dejana E., Breviario F., Errori A. et al. In human monocytes interleukin-1 stimulates a phospholipase C active on phosphatidylcholine and inactive on phosphatidylinositol // Blood. – 1987. – V. 69, N 2. – P. 695-9.
52. De Jong HK, van der Poll T, Wiersinga WJ. The systemic pro-inflammatory response in sepsis. J Innate Immun. 2010. №2. P. 422-30.
53. De Palma C., Meacci F., Perrotta C. et al. Endothelial nitric oxide synthase activation by tumor

necrosis factor- α // *Arteriosclerosis, Thrombosis and vasc. Biol.* – 2006. – N 1. – P. 99-106.

54. Endo T., Ogushi F., Sone S. LPS-dependent cyclooxygenase-2 induction in human monocytes in down-regulated by IL-13 // *J. Immunol.* – 1996. – N 6. – P. 2240-46.

55. Esmon C.T. The interactions between inflammation and coagulation // *Br. J Haematol.* 1999; V. 84. P. 254-9.

56. Esmon C.T. Fukudome K, Mather T, et al. Inflammation, sepsis and coagulation// *Haematologica.* 2005. V. 131. P. 417-30.

57. Falanga A., Marchetti M., Vignoli A. Cancer and thrombosis in women: mechanisms // *Thromb. Res.* – 2007. – V. 119, Suppl. 1. – P. 533-5.

58. Frasier-Scott K, Hatzakis H., Seong D. et al. Influence of natural and recombinant interleukin 2 on endothelial cell arachidonate metabolism. Induction of de novo synthesis of prostaglandin H synthase // *J. Clin. Invest.* – 1988. – V. 82, № 6. – P. 1877-83.

59. Giddings J.C., Shall L. Enhanced release of von Willebrand factor by human endothelial cells in culture in the presence of phorbol myristate acetate and interleukin 1 // *Thromb. Res.* – 1987. – V. 47, № 3. – P. 259-67.

60. Gori A.M., Cesari F., Marcucci R. The balance between pro- and anti-inflammatory cytokines is associated with platelet aggregability in acute coronary syndrome patients // *Atherosclerosis.* – 2009. – V. 202. – P. 255-62.

61. Hack C.E. Derangements of coagulation and fibrinolysis in infectious diseases // *Contributions to microbiology* // 2003. V. 10. P. 19-37.

62. Hagberg I.A., Lyberg T. Evaluation of circulating platelet-leukocyte conjugates: a sensitive flow cytometric assay well suited for clinical studies // *Platelets.* – 2000. – V. 11, N 3. – P. 151-5.

63. Hakkert B.C., Rentenaar J.M., van Mourik J.A. Monocytes enhance endothelial von Willebrand factor release and prostacyclin production with different kinetics and dependency on intercellular contact between these two cell types // *Brit. J. Haematol.* – 1992. – V. 80, N 4. – P. 495-503.

64. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease // *N. Engl. J. Med.* 2005. V. 352, N 16. P. 1685-95.

65. Hansson G.K. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis // *J. Thromb. Haemost.* 2009. V. 7. Suppl. 1. P. 328-31.

66. Hartford M., Wiclung O., Hilten L. et al.

Interleukin-18 as a predictor of future events in patients with acute coronary syndromes// *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Boil.* – 2010. – V. 30. – N10. – P. 2039-46.

67. Hawrylowich C.M., Santoro S.A., Platt F.M., Unanue E.R. Platelet derived interleukin 1 induces human endothelial adhesion molecule expression and cytokine production // *J. Immunol.* – 1989. – V. 143, N 12. – P. 4015-18.

68. Heitmeier, M. R., M. Arnush, A. L. Scarim, Corbett J. A. Pancreatic beta-cell damage mediated by beta-cell production of interleukin-1 // *J Biol Chem.* 2001. V. 276. P.11151-8.

69. Hirashima Y., Nakamura S., Endo S. et al. Elevation of platelet activating factor, inflammatory cytokines, and coagulation factors in the internal jugular vein of patients with subarachnoid hemorrhage // *Neurochem. Res.* – 1997. – № 10. – P. 1249-55.

70. Hot A, Lenief V, Miossec P. Combination of IL-17 and TNF α induces a pro-inflammatory, pro-coagulant and pro-thrombotic phenotype in human endothelial cells//*Ann Rheum Dis.* 2012. V. 7. №5. P.768-76.

71. Jakobs E., Sutor A.N. Interaction of platelet aggregation and granulocyte function // *Ann. Hematol.* – 1991. – V. 62, N 2-3. – P. 87-91.

72. Jacobs F., Chaussabel D., Truysens C., Leclercq V. et al. IL-10 up-regulates nitric oxide synthesis by LPS-activated macrophages // *Clin. and exp. Immunol.* – 1998. – N 1. – P. 59-64.

73. Jungi T.W., Brcic M., Sager H. et al. Antagonistic effects of IL-4 and Interferon γ on inducible nitric oxide synthase expression in bovine macrophages exposed to Gram-positive bacteria // *Clin. and exp. immunol.* – 1997. – V. 109, № 3. – P. 431-8.

74. Kashiwamura S., Ueda H., Okamura H. Role of interleukin 18 in tissue destruction and compensatory reactions // *J. Immunol.* – 2002. – V. 25. Suppl. 1. – P. 4-11.

75. Kuznik B.I., Tsybikov N.N. Immune Mechanisms Regulating the haemostasis System // *Hematol. Rev.* 1992. V. 3, Part 2. P. 3-20.

76. Kuznik B.I., Tsybikov N.N. Cytokines, Immunoglobulins and Hemostasis // *Hematol. Rev.* 1996. V. 7, Part 2. P. 43-70.

77. Lentsch A.B., Edwards M.G., Miller F.N. Interleukin-2 induces increased platelet-endothelium interactions: A potential mechanism of toxicity // *J. of Laboratory and Clinical Medicine.* – 1996. – V. 128, № 1. – P. 75-82.

78. Loppnow H., Bil R., Hirt I., Schonbeck U. et al. Platelet-derived IL-1 induces cytokine production, but not proliferation of human vascular smooth muscle cells // *Blood*. – 1998. – V. 91, № 1. – P. 134-41.
79. Lugassy G., Falanga A., Kakkar A.K., Rickles F.R. Thrombosis and cancer. London and New York: Martin Dunitz, 2004. 230 p.
80. Maione F., Cicala C., Liverani E et al. IL-17A increases ADF-induced platelet aggregation// *Biochem. And biophys Res. Commun.* 2011. – V. 408. № 4. P. 458-62.
81. Monton M., Lopeć-Farre A., Mosguera J. et al. Endogenous angiotensin II produced by endothelium regulates interleukin-1 β -stimulated nitric oxide generation in rat isolated vessels // *Hypertension*. – 1997. – V. 30, № 5. – P. 1191-7.
82. Moon I.J., Hong S.L., Kim D.Y. et al. Blocking interleukin-17 attenuates enhanced inflammation by staphylococcal enterotoxin B in murine allergic rhinitis model. *Acta Otolaryngol.* 2012 Jun;132 Suppl 1:S6-S12.
83. Newton R.C., Covington M. The activation of human fibroblast PgE2 – production of interleukin 1 // *Cell. Immunol.* – 1987. – N 2. – P. 338-49.
84. Ngoc P.L., Gold D.R., Tzianabos A.O. Cytokines, allergy, and asthma // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005. V. 5. P. 161–166.
85. Nguyen T.C., Liu A., Liu Li et al. Acquired ADAMTS-13 deficiency in pediatric patients with severe sepsis // *Haematol.* – 2007. – V. 92, N 1. – P. 121-4.
86. Nishimura S., Manabe I., Nagasaki M. et al. In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling// *Blood*. 2012. V 119. № 8. P.45-56
87. Nyugen J., Sudhanshu A., Sastry G. Et al. Impaired functions of peripheral blood monocyte subpopulations in aged humans // *J Clin. Immunol.*, 2010 V. 30. № 6. P. 806-13.
88. Oleksowich L., Paciucci P.A., Zuckerman D. et al. Alteration of platelet function induced by interleukin-2 // *J. Immunother.* – 1991. – N 5. – P. 363-70.
89. Oleksowich L., Strack M., Dutcher J.P. et al. A distinct coagulopathy associated with interleukin-2 therapy // *Br. J. Haematol.* – 1994. – V. 88, № 4. – P. 892-4.
90. Østerud B. The role of platelets in decrypting monocyte tissue factor // *Semin. Hematol.* 2001. N 38. P. 2-5.
91. Østerud B. Tissue factor and its role in hemostasis and thrombosis // *Тромбозы, кровоточивость и болезни сосудов*. 2008. Приложение № 6. C. 3-6.
92. Paleolog E.M., Crosman D.C., McVey J.H., Pearson J.D. Differential regulation by cytokines of constitutive and stimulated secretion of von Willebrand factor from endothelial cells // *Blood*. – 1990. – V. 75, N 3. – P. 688-95.
93. Paleolog E.M., Carew M.A., Pearson J.D. Effects of tumor necrosis factor and interleukin-1 on von Willebrand factor secretion from human vascular endothelial cells // *Int. J. Radiat. Biol.* – 1991. – V. 60, N 1-2. – P. 279-285.
94. Pancre V., Joseph M., Capron A. et al. Recombinant human interferon γ induces increased IgE receptor expression of human platelets // *Europ. J. Immun.* – 1988. – N 1. – P. 829-34.
95. Schini V.B., Catovsky S., Durante W. et al. Thrombin inhibits inductions of nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells // *Amer. J. Physiol.* – 1993. – V. 264. – P. 611-6.
96. Schorer A.E., Kaplan M.E., Rao G. et al. Interleukin 1 stimulates endothelial cell tissue factor production and expression by a prostaglandin-independent mechanism // *Thromb. Haemost.* – 1986. – N 3. – P. 462-8.
97. Scull C.M., Hays W.D., Fischer Th.H. Macrophage pro-inflammatory cytokine secretion is enhanced following interaction with autologous platelets // *J. of inflammation*. – 2010. – V. 7. – P. 53-7.
98. Shosaku N., Kagawa H., Ozaki Y. et al. Relationship between Platelet Activation and Cytokines in Systemic Inflammatory Response Syndrome Patients with Hematological Malignancies // *Thromb. Res.* – 1999. – V. 95. – P. 205-13.
99. Stott D.G., Robertson M., Rumley A. et al. Activation of hemostasis and decline in cognitive function in older people // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vasc. Biol.* 2010. – V. 30. № 3 P. 605-611.
100. Szotowski B., Antoniak S., Poller W. et al. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines // *Cir. Res.* – 2005. – N 12. – P. 1233-9.
101. Usui F., Kimura H., Ohshiro T. et al. Interleukin-17 deficiency reduced vascular inflammation and development of atherosclerosis in Western diet-induced apoE-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012. V. 420. – № 1. P. 72-7.
102. Zarei S., Frieden M., Rubi B. et al. Dopamine modulates von Willebrand factor secretion in endothelial cells via D2-D4 receptors // *J. Thromb. Haemost.* –

2006. – V. 4. – P.1588-95.

103. Zatta A., Prosdocimi M., Bertele V., Bazzoni G., Maschio A.D. Inhibition of platelet function by polymorphonuclear leukocytes // J. lab. and clin. med. – 1990. – V. 116, N 5. – P. 651-60.

104. Zhang S, Yuan J, Yu M et al. IL-17A facilitates platelet function through TERK2 signaling pathway in patients with acute coronary syndrome//PLOS One. 2012.

V.7. № 7:e40641. Epub 2012, Jul 11.

105. Zhen-Xing F., Qui H., Yin-Ping L. et al. Interleukin-6, but not soluble adhesion molecules predicts subsequent mortality from cardiovascular disease in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction//Cell. Biochem. and biophys. 2011. V.61. № 2. P.443-48.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Научно-практический журнал «Гемостазиология» — печатное издание для гематологов, врачей-лаборантов и других специалистов, занимающихся проблемами системы гемостаза. Журнал публикует оригинальные статьи по фундаментальным, прикладным, клиническим и экспериментальным исследованиям, а также клинические наблюдения, лекции, дискуссии, обзоры литературы и другие информационные материалы, посвященные актуальным проблемам системы гемостаза. Основные разделы журнала: «Передовая статья», «Оригинальные исследования», «Новые медицинские технологии», «Лекции», «Современные лекарственные препараты», «Случай из практики».

Решение о публикации статей принимает редакционный совет на основании мнения независимых рецензентов. Редакция оставляет за собой право редактировать статьи. **Авторам публикаций будет обеспечена бесплатная подписка в течение года за счет издателя (подписка будет оформлена на учреждение, из которого исходит рукопись).**

Общие правила оформления рукописи

Рукопись публикации необходимо представить в редакцию в двух экземплярах. На первой странице первого экземпляра должна быть виза руководителя учреждения, заверенная печатью. Кроме того, в рукописи следует предоставить информацию о месте работы, должностях, научных званиях авторов, а также все их подписи. Важно также отдельно указать фамилию, имя, отчество, телефон, почтовый адрес и e-mail автора, ответственного за переписку с редакцией.

К работе прилагается письменное сопровождение, подтверждающее передачу прав на публикацию, с указанием того, что данный

материал соответствует этическим стандартам биоэтического комитета учреждения. В сопроводительных письмах публикаций, описывающих эксперименты на животных, важно указать, что они проводились в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Копии всех материалов должны храниться у авторов публикации.

Разделы публикации

Оригинальная публикация должна включать следующие разделы: введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение (выводы), список литературы. В обзорах, лекциях, передовых статьях, описаниях клинических случаев возможна другая структура разделов.

Особенности печати экземпляра рукописи

Печатать текст и остальные компоненты статьи следует на бумаге формата А4 с размером полей не менее 2 см справа, слева, сверху и внизу, на одной стороне листа через одинарный междустрочный интервал, используя шрифт Times New Roman, размер 12 пунктов. Страницы должны быть пронумерованы арабскими цифрами, начиная с титульной. Общий объем оригинальной статьи не должен превышать 12, обзорной работы — 15, кратких сообщений — 4 страниц машинописного текста.

Иллюстрации

Рисунки, графики, схемы, фотографии представляются в двух экземплярах, нумеруются

ся. При необходимости следует указать ориентацию рисунка, подписав «верх». Подписи к иллюстрациям прилагаются на отдельном листе с указанием номера рисунка. Для ранее опубликованных иллюстраций необходимо указать оригинальный источник и представить письменное разрешение на воспроизведение от их автора.

Таблицы

Таблицы нумеруются и последовательно цитируются в тексте. Каждый столбец должен иметь краткий заголовок, пропуски в строках (за отсутствием данных) обозначаются знаком тире. На данные из других публикаций необходима ссылка. Дублирование одних и тех же сведений в тексте, графиках, таблице недопустимо.

Сокращения

Следует ограничиться общепринятыми сокращениями (ГОСТ 7.12-93 для русского и ГОСТ 7.11-78 для иностранных европейских языков), избегая новых без достаточных на то оснований. Аббревиатуры расшифровываются при первом использовании терминов и остаются неизменными по всему тексту. Сокращения, аббревиатуры в таблице разъясняются в примечании.

Библиографические ссылки

Ссылки должны быть четко сверены с оригиналами и приведены под заголовком «Список литературы» на отдельном листе в порядке цитирования либо в алфавитном порядке для обзоров литературы. В тексте ссылки нумеруются в квадратных скобках: [1], [3–6], [8, 9]. Библиографическое описание выполняется на основе ГОСТ 7.1-2003 («Библиографическая запись. Библиографическое описание»).

Авторство

Данные об авторах указываются в последовательности, которая определяется их совместным решением и подтверждается подписями. Иные лица, внесшие вклад в выполнение работы, недостаточный для признания авторства, но оказавшие техническую, финансовую, интеллектуальную помощь, должны быть перечислены (с

их письменного согласия) в разделе «Выражение признательности» после текста статьи.

Электронная версия

К рукописи, принятой для публикации, должен быть приложен окончательный электронный вариант статьи и иллюстративного материала на CD-диске. Публикации предоставляются в текстовом редакторе Word for Windows (RTF); таблицы и графики — Microsoft Excel (XLS); фотографии и рисунки следует отправлять в формате TIF с разрешением не менее 300 точек, векторные изображения — в EPS, EMF, CDR. Размер изображения должен быть не менее 4,5 × 4,5 см, а по площади занимать не более 100 см². CD-диск должен быть четко подписан (автор, название статьи).

Адрес редакции

656024, Россия, Алтайский край,
г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1,
ГУЗ «Краевая клиническая больница».
E-mail: amamaev@yandex.ru

Рукопись публикации и ее электронный вариант следует направлять главному редактору или заместителю главного редактора: главный редактор — д.м.н., профессор А. П. Момот, тел./факс: (3852) 689-800; заместитель главного редактора — д.м.н. А. Н. Мамаев, тел./факс: (3852) 689-880.

