

угловатых ядер. На пики с ИОП, равной 18 и 40, приходилось по 41 и 38% клеток соответственно. Подобным образом распределялись по оси ИОП синовиоциты III типа с сильно деформированными ядрами.

Результаты исследований кинетики пролиферации синовиоцитов при ПТОА свидетельствуют о том, что в синовии больных почти всегда встречается определенное количество S-фазных клеток. Высокая корреляция между площадью ядра и его ИОП указывала на то, что по мере прохождения S-фазы площадь ядра прогрессивно увеличивалась. Это нашло подтверждение при исследовании синовиоцитов больных с ПТОА, выполненного при помощи компьютерного анализа. Пики, регистрируемые на гистограммах распределения клеток по ИОП, представляют собой моды 2с и 4с и соответствуют фазам клеточного цикла G1-период и G2-период. Клетки, формирующие плато, скорее всего проходят S-период интерфазы. Отмечено достоверное увеличение процента клеток, составляющих плато при возрастании количественных показателей, характеризующих форму, площадь и степень окрашенности ядра клеток.

Компьютерный анализ синовиоцитов, окрашенных по Фельгену, показал, что синовиоциты II типа, поддающиеся классификации, в основной своей массе находятся в G1-периоде интерфазы. Исходя из данных компьютерного анализа логично предположить, что синовиоциты II типа представляют собой бласттрансформированные клетки.

**Выводы.** 1. Предлагаемый метод компьютерного анализа изображения позволяет проводить широкий спектр кариометрических исследований патологических процессов в синовии у больных с ПТОА.

2. Результаты исследования позволяют рекомендовать использование при компьютерной морфометрии новых пока-

зателей, характеризующих яркость и оптическую плотность изображения и позволяющих оценить степень компактизации и количество ДНК в ядрах клеток.

3. Компьютерная морфометрия позволяет дифференцировать синовиоциты I, II и III типов у больных с ПТОА на основании параметров формы и гистограмм распределения яркостей ядер клеток.

4. Компьютерный анализ синовиоцитов, окрашенных по Фельгену, свидетельствует о том, что в синовии у больных с ПТОА синовиоциты II типа в основном находятся в G<sub>1</sub>-периоде интерфазы, а синовиоциты III типа – в S-периоде или G<sub>2</sub>-периоде интерфазы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Базарный В. В. Синовиальная жидкость (клинико-диагностическое значение лабораторного анализа). – Екатеринбург, 1999.
2. Насонов В. А., Астапенко М. Г. Клиническая ревматология. – М., 1989.
3. Ченай В. М. Диагностика и лечение болезней суставов. – М., 1990.
4. Dieppe P., Pascual E., Swan A. // Rheum Eur. – 1997. – Vol. 26. – P. 74/
5. Dougados M. // Baillieres Clin. Rheumatol. – 1996. – Vol. 10. – P. 519–534.
6. Paus A. C., Pahle J. A. // Scand. J. Rheumatol. – 1990. – Vol. 19. – P. 193–201.
7. Shmerling R. H. // Rheum. Dis. Clin. N. Am. – 1994. – Vol. 20. – P. 503–512.
8. Zschabitz A., Neurath M., Grevenstein J. et al. // Surg. Endosc. – 1992. – Vol. 6. – P. 277–282.

Поступила 05.10.11

## КОАГУЛОЛОГИЯ

© У. В. ХАРЛАМОВА, О. Е. ИЛЬИЧЕВА, 2012

УДК 616.61-78-06:616.1]-074

У. В. Харламова, О. Е. Ильичева

### ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздрава

*С целью оценки диагностической значимости лабораторных маркеров дисфункции эндотелия (концентрации гомоцистеина, активности фактора Виллебранда) у больных, находящихся на лечении программным гемодиализом, обследовано 82 пациента. Выявлено достоверное повышение уровня гомоцистеина, активности фактора Виллебранда у пациентов, находящихся на диализе. Отмечена ассоциация увеличения концентрации гомоцистеина, активности фактора Виллебранда и с частотой сердечно-сосудистых осложнений у больных на программном гемодиализе.*

**Ключевые слова:** гемодиализ, гомоцистеин, фактор Виллебранда, сердечно-сосудистые осложнения

*U. V. Kharlamova, O. Ye. Ilyicheva*

#### THE DIAGNOSTIC VALUE OF LABORATORY MARKERS OF EPITHELIUM DAMAGE IN PATIENTS PASSING THE PROGRAM HEMODIALYSIS

*The sampling of 82 patients was included into the study to assess the diagnostic value of laboratory markers of endothelium dysfunction (homocysteine concentration, von Willebrand factor activity) in patients passing the treatment of program hemodialysis. The study detected the reliable increase of homocysteine level and activity of von Willebrand factor in patients passing hemodialysis. The association of increasing of concentration of homocysteine and von Willebrand factor activity with rate of cardiovascular complications in patients passing the program in patients passing hemodialysis was established.*

**Key words:** hemodialysis, homocysteine, von Willebrand factor, cardiovascular diseases

В настоящее время в патогенезе сердечно-сосудистых осложнений (ССО) у больных, получающих терапию программным гемодиализом, ведущая роль отводится эндотелиальной дисфункции [3]. В связи с этим пристальное внимание уделяется метаболическим факторам, способным вызывать дисфункцию или повреждение эндотелия [2]. Число маркеров эндотелиальной дисфункции увеличивается по мере накопления знаний и возможностей лабораторной диагностики – фактор Виллебранда, гомоцистеин, С-реактивный белок, интерлейкин-6, фибриноген, фактор некроза опухолей, тканевый ингибитор активатора плазминогена и др. Ряд исследователей относят эти метаболически активные вещества к “нелипидным” факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний [3]. Особое значение среди показателей повреждения эндотелия принадлежит гомоцистеину и фактору Виллебранда [1, 4]. Гомоцистеин является независимым маркером высокой смертности от сердечно-сосудистых заболеваний [5, 7]. Концентрация гомоцистеина плазмы признана независимым фактором риска развития атеросклероза [4, 8]. Повышенный уровень фактора Виллебранда является индикатором повреждения эндотелия [1]. Высокая концентрация фактора Виллебранда указывает на повышенный риск тромбообразования, развития инфаркта миокарда, коррелирует со степенью тяжести стенокардии, является независимым маркером последующих острых коронарных событий [6].

Однако в повседневной практике клинико-диагностических лабораторий исследования концентрации гомоцистеина, фактора Виллебранда вызывают методические трудности, являются дорогостоящими, а также не входят в список обязательных лабораторных тестов. Вместе с тем определение оптимальных лабораторных маркеров повреждения эндотелия у больных на гемодиализе с целью прогнозирования ССО является актуальной задачей как с научной, так и с практической точки зрения.

Цель исследования – оценить диагностическую значимость исследования гомоцистеина и фактора Виллебранда у больных, находящихся на лечении программным гемодиализом.

*Материалы и методы.* Обследовано 82 пациента (47 мужчин – 57,3% и 35 женщин – 42,7%, средний возраст  $55,2 \pm 8,58$  года), находящихся на лечении программным гемодиализом в период 2008–2009 гг. на базе МУЗ ГКБ № 8 Челябинска.

Критерии включения в исследование: терминальная стадия хронической почечной недостаточности (ХПН), больные, находящиеся на лечении гемодиализом; информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования: отказ пациента от обследования.

Клинические исходы: 1) смерть; 2) стенокардия; 3) инфаркт миокарда; 4) нарушения ритма и проводимости (желудочковая экстрасистолия высоких градаций, частая суправентрикулярная экстрасистолия, пароксизмы фибрилляции предсердий, атриовентрикулярная блокада II–III степени), выявленные клинически и на ЭКГ покоя.

Гемодиализ проводили на аппарате “Fresenius” с использованием бикарбонатного диализирующего раствора и полисульфоновых диализаторов F8 и F10 HPS. Продолжительность сеанса гемодиализа составляла 4–5 ч 3 раза в неделю. Обеспеченная доза диализа (индекс  $spKT/V$ ) составляла не менее 1,3 по логарифмической формуле Дж. Даугирдаса:

Уровень гомоцистеина исследовали методом иммуноферментного анализа на анализаторе «AXIS-SHEILD» (“Diagnostica Limited”, UK). Концентрация гомоцистеина 15–30 мкмоль/л рассматривалась как умеренная гипергомоцистеинемия, 30–100 мкмоль/л – как средняя, более 100 мкмоль/л – как тяжелая.

Активность фактора Виллебранда определяли в ходе реакции агглютинации тромбоцитов в присутствии ристоминина на агрегометре «Биола».

В качестве контрольной группы обследовано 10 здоровых добровольцев (5 женщин и 5 мужчин, средний возраст –  $43,9 \pm 15,5$  года).

Статистическая обработка выполнена с использованием пакета статистических прикладных программ SPSS for Windows. Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение. При уточнении влияния качественных признаков на вероятность изучаемых осложнений выполнялся расчет относительного риска с указанием 95% доверительного интервала. Для проверки независимости качественных показателей применялся критерий  $\chi^2$  Пирсона. Значимости различий для количественных данных между группами оценивалась с помощью U-критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

*Результаты и обсуждение.* По результатам проведенного исследования выявлено, что средние концентрации гомоцистеина ( $22,07 \pm 7,56$  и  $7,12 \pm 2,56$  мкмоль/л;  $p = 0,001$ ), уровня активности фактора Виллебранда ( $126,06 \pm 40,08$  и  $75,02 \pm 12,23\%$ ;  $p = 0,005$ ) у гемодиализных больных были достоверно выше, чем в контрольной группе.

При анализе распространенности и выраженности гипергомоцистеинемии у больных, получающих терапию программным гемодиализом, выявлено преобладание умеренной ( $n = 46$ ; 56,1%) и средней степени тяжести ( $n = 31$ ; 37,8%) гипергомоцистеинемии. Уровень гомоцистеина у пациентов на гемодиализе с ССО оказался достоверно выше, чем у больных без таковых ( $35,43 \pm 12,83$  и  $27,75 \pm 11,34$  мкмоль/л соответственно;  $p = 0,005$ ).

В группе пациентов, получающих гемодиализ, увеличение уровня гомоцистеина более 30 мкмоль/л сопровождалось увеличением частоты ССО более чем в 3 раза (табл. 1).

Уровень активности фактора Виллебранда у больных на диализе с ССО был достоверно выше, чем у больных без таковых ( $138,06 \pm 34,13$  и  $124,02 \pm 11,23\%$  соответственно;  $p = 0,01$ ). В группе пациентов на гемодиализе увеличение уровня фактора Виллебранда более 75,02% сопровождалось увеличением частоты ССО более чем в 5 раз (табл. 2).

По результатам проведенного исследования выявлено нарушение функции эндотелия у пациентов на диализе: средние концентрации гомоцистеина, фактора Виллебранда у больных на гемодиализе были достоверно выше, чем в контрольной группе. Отмечена ассоциация увеличения концентрации гомоцистеина, активности фактора Виллебранда с частотой ССО. В литературе широко представлены данные клинических и эпидемиологических исследований о роли гипергомоцистеинемии как маркера высокого риска атеросклеротического поражения коронарных, мозговых, периферических сосудов [4, 8]. Гипергомоцистеинемия полностью сохраняет свое значение как важный кардиоваскулярный фактор риска и в популяции почечных больных [2, 3]. Известно, что гипергомоцистеинемия сопровождается развитием эндотелиальной дисфункции, являющейся одним из патогенетических механизмов атеросклеротического поражения сосудистой стенки [12, 15]. Согласно данным литературы, развитие острой и хронической эндотелиальной дисфункции при гипергомоцистеинемии обнаружено как в эксперименте на животных, так и у человека [11]. При этом большое значение придается влиянию гомоцистеина на метаболизм оксида азота (NO). Существуют данные о связи гомоцистеина с продукцией

Для корреспонденции:

Харламова Ульяна Владимировна, канд. мед. наук, ассистент каф. внутренних болезней и военно-полевой терапии  
Адрес: 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64  
Телефон: (8912)472-38-20  
E-mail: top120@yandex.ru

Таблица 1

**Связь гипергомоцистенемии и ССО у пациентов на гемодиализе**

Показатель	Пациенты с ХПН на гемодиализе		Всего
	с ССО	без ССО	
Гомоцистеин от 15 до 30 мкмоль/л	7	39	46
Гомоцистеин > 30 мкмоль/л	11	20	31
Всего...	18	59	77

Примечание.  $\chi^2 = 4,54$ ;  $p = 0,03$ ; OR = 3,06 [1,13; 7,69].

Таблица 2

**Взаимосвязь ССО с уровнем активности фактора Виллебранда у больных на гемодиализе**

Показатель	Пациенты с ХПН на гемодиализе		Всего
	с ССО	без ССО	
Фактор Виллебранда < 75,02%	2	7	9
Фактор Виллебранда > 75,02%	46	27	73
Всего...	48	34	82

Примечание.  $\chi^2 = 5,49$ ;  $p = 0,02$ ; OR = 5,96 [2,76; 9,31].

NO через NO-синтазу, что позволило объяснить механизм дисфункции эндотелия [9, 10]. Альтернативно гомоцистеин может приводить к накоплению асимметричного диметиларгинина, являющегося эндогенным ингибитором NO-синтетазы [14]. В случае повреждения клетки эндотелия освобождение фактора Виллебранда увеличивается, что дает основание использовать его в качестве индикатора нарушения эндотелиальной и эндокардиальной дисфункции [1, 6]. В патофизиологии фактор Виллебранда как носитель фактора VIII может координировать образование фибрина и с помощью тромбоцитов способствовать образованию тромбов на стороне повреждения клеток эндотелия, вызывая ишемические изменения. Фактор Виллебранда играет роль в адгезии и агрегации тромбоцитов, в процессах коагуляции, а увеличение его концентрации может приводить к повышенному риску тромбогенеза, развитию тромботических осложнений и как следствие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [6, 13].

**Выводы.** 1. У пациентов, находящихся на лечении программным гемодиализом, выявлено достоверное повышение уровня гомоцистеина и активности фактора Виллебранда по сравнению с практически здоровыми лицами.

2. Среди пациентов, получающих заместительную почечную терапию, преобладала умеренная и средней степени тяжести гипергомоцистенемия.

3. В группе больных на гемодиализе с ССО концентрация гомоцистеина и фактора Виллебранда была достоверно выше, чем у пациентов без этих осложнений.

4. Отмечена ассоциация увеличения концентрации гомоцистеина и активности фактора Виллебранда с частотой ССО у больных на программном гемодиализе.

5. Концентрация гомоцистеина и уровень фактора Виллебранда могут быть рекомендованы в качестве маркеров риска развития ССО у больных, получающих терапию программным гемодиализом.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Насонов Е. Л., Баранов А. А., Шилкина Н. П. // Клин. мед. – 1998. – № 11. – С. 4–9.
2. Смирнов А. В., Есаян А. М., Каюков И. Г. и др. // Нефрология. – 2004. – № 3. – С. 89–99.
3. Смирнов А. В., Доброзрагов В. А., Каюков И. Г. // Нефрология. – 2005. – № 3. – С. 7–15.
4. Шевченко О. П. // Клин. лаб. диагн. – 2004. – № 10. – С. 25–31.
5. Blacher J., Benetos A., Kirzin J. et al. // Am. J. Cardiol. – 2002. – Vol. 90, N 6. – P. 591–595.
6. Blann A. D. // Br. J. Biomed. Sci. – 1993. – Vol. 50. – P. 124–134.
7. Booth G., Wang E. // Can. Med. Assoc. J. – 2000. – Vol. 163, N 1. – P. 21–29.
8. Clarke R., Daly L., Robinson K. et al. // N. Engl. J. Med. – 1991. – P. 114–155.
9. Coppola A., Davi G., De Stefano V. et al. // Semin. Thromb. Hemost. – 2000. – Vol. 26. – P. 243–254.
10. Fu W., Dudman N., Perry M. et al. // Atherosclerosis. – 2002. – Vol. 161, N 1. – P. 169–176.
11. Lang D., Kredan M. B., Lang D. et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2000. – Vol. 5. – P. 257–261.
12. Marcucci R., Prisco D., Brunelli T. et al. // Thromb. Haemost. – 2000. – Vol. 83. – P. 826–832.
13. Ruggeri Z. M. // Thromb. Haemost. – 1995. – Vol. 74. – P. 460–463.
14. Tawakol A., Omland T., Gerhard M. et al. // Circulation. – 1997. – Vol. 95. – P. 1119–1121.
15. Tawakol A., Forgiione M., Stuehlinger M. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2002. – Vol. 40, N 6. – P. 1051–1058.

Поступила 10.05.11