

**С.Г.Владимирова¹, Л.Н.Тарасова¹, В.В.Черепанова², И.А.Докшина¹,
Г.Н Мустафина³**

**ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ
ЛЕЙКОЗАМИ В ПЕРИОД МАНИФЕСТАЦИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

¹ ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови
ФМБА России»,

² ГБУЗНО «Городская больница №33», Нижний Новгород

³ КОГБУЗ Кировская областная детская клиническая больница

Известно, что при развитии неопластических процессов, в том числе при остром лейкозе (ОЛ), происходит активация внутрисосудистого свертывания крови, приводящая к развитию осложнений как тромботического, так и геморрагического характера [2,3,10]. В литературе широко дискутируются различные механизмы этих нарушений, в том числе зависящие от самого лейкозного процесса: это повышенная активность протеиназ лейкоцитов, активация свертывания и фибринолиза; освещаются также вопросы нарушения функции эндотелия, повреждение которого вызывает запуск коагуляционного каскада [7].

Сами лейкоэмические клетки содержат прокоагулянтные, фибринолитические и антифибринолитические субстанции, свойства которых изучены достаточно хорошо. Раковый прокоагулянт (СР) в них выявлен как при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ), так и при миелоидном (ОМЛ) всех вариантов, с наибольшей активностью при варианте М3 – остром промиелоцитарном лейкозе (ОПЛ) [9]. Этот фермент считается ответственным за нарушения свертывания крови у онкологических больных; он является прямым активатором фактора X, без содействия фактора VII, тканевого активатора плазминогена (t-РА) или других кофакторов [14]. При ОЛЛ СР находится на 30% бластных клеток [8].

Прокоагулянтная активность лейкозных клеток также реализуется посредством тканевого фактора (ТФ), образующего комплекс с ф. VII и активирующего ф. ф. X, XI [1]. По данным Y.Nadir et al. [13], ТФ и прокоагулянтные свойства лейкозных клеток, изолированных из периферической крови и костного мозга, были значительно выше при ОПЛ и ОМЛ М4-5 вариантов, нежели при других ОЛ.

Неполноценность эндотелия при ОЛ связана с наличием у больных тромбоцитопении и/или качественной неполноценности мегакариоцитарно-тромбоцитарного аппарата, приводящих к снижению ангиотрофической функции тромбоцитов, нарушению взаимодействия субэндотелия (коллагена) с фактором Виллебранда (ФВ) и тромбоцитами, снижению резистентности эндотелия и его способности связывать и инактивировать тромбин из-за потери рецепторного гликопротеина – тромбомодулина (ТМ) [6].

Под термином «дисфункция» понимают изменения эндотелия, возникающие под воздействием таких повреждающих стимулов, как механическая травма сосудов, цитокины, атерогенные стимулы (гомоцистеин, липопротеины низкой плотности), эндотоксины (в частности,

липополисахариды), иммунные комплексы, микроорганизмы и прочие. В связи с этим различные воспалительные, инфекционные и онкогематологические заболевания, равно как и метаболические расстройства, могут вызывать нарушения гемостаза в результате повреждения эндотелия и изменения его свойств. При этом меняются уровни ТФ, ФВ, ТМ; это обычно происходит в соответствии с повреждающими стимулами, индуцирующими экспрессию ТФ, а также супрессию активации протеина С (ПрС) и фибринолиза [4,5,7,11].

Целью работы явилась оценка изменений показателей состояния эндотелия и коагуляционного гемостаза у больных острыми миелоидным (кроме ОПЛ) и лимфобластным лейкозами при манифестации заболевания, а также оценка зависимости этих изменений от формы лейкоза и наличия инфекционных осложнений.

Были проанализированы данные 108 пациентов с впервые выявленным ОЛ, проходивших лечение в клинике КНИИГиПК. Из них больных ОМЛ было 78 человек в возрасте 21-79 лет (медиана – 55); мужчин-34, женщин-44. Варианты ОМЛ по FAB-классификации: М0–5, М1–7, М2–42, М4–16, М5–7 и М6–1 человек (больных ОПЛ в данное исследование не включали). ОЛЛ был диагностирован у 30 человек (возраст от 16 до 70 лет; медиана – 45; мужчин-15, женщин-15). В-клеточный вариант ОЛЛ был у 26 человек, Т-клеточный – у 4.

Определяли маркеры повреждения эндотелия: уровень антигена ФВ (ФВ:Ag) (набор "TECHNOZYM® vWF:Ag ELISA" фирмы "Technoclone"), растворимый ТМ (тест-система "Human CD 141 ELISA" фирмы "Diacclone"), эндотелин-1 (ЭТ-1) (набор "Endothelin (1-21)" фирмы "Biomedica Gruppe").

Кроме этого, исследовали показатели свертывающей и фибринолитической систем крови, основные физиологические антикоагулянты и маркеры тромбинемии. Применяя тест-системы фирмы "Diagnostica Stago-Roche", оценивали следующие показатели: индекс активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ) и активность ф. VIII с реагентом "РТТа", протромбиновый индекс (ПТИ) с "Neoplastin Plus", концентрацию фибриногена с набором "Fibrinogen Reagent", уровень Д-димеров методом латекс-агглютинации с набором "D-Dimer Test". Результаты последнего теста получали в следующих интервалах: ≤500, 501-1000, 1001-1500, 1501-2000, 2001-2500, 2501-3000, >3000 нг/мл (норма ≤500 нг/мл). Чтобы данные можно было обрабатывать статистически, им присвоили баллы от 1 до 7. Активность плазминогена и ПрС исследовали амидолитическими методами с использованием наборов "ХромоТех-Плазминоген" фирмы "Технология-Стандарт" и "РЕАХром-Протеин С" – НПО "РЕНАМ". Определяли также активность антитромбина III (АТIII), время Хагеман-зависимого зуглобулинового лизиса (ХIIа-ЗЭЛ), растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) в ортофенантролиновом (с набором фирмы "Технология-Стандарт") и этаноловом тестах. Последний является качественным (результат положительный или отрицательный), но в связи с различной интенсивностью образования хлопьев или сгустка при

положительном результате применили градацию, обозначенную в баллах от 1 до 3 [3]. Исследовали также уровень С-реактивного белка (СРБ) как показатель интенсивности воспалительного ответа, методом иммунотурбидиметрии, используя набор фирмы "Roche".

Данные анализировали, учитывая медиану, минимальное и максимальное значения. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни (сравнение 2 выборок), Крускала-Уоллиса и Данна (множественные сравнения).

Инфекционные осложнения в период обследования отсутствовали лишь у 28 (36%) больных ОМЛ и у 13 (43%) – ОЛЛ. Поскольку установлено, что инфекция является значимым фактором активации внутрисосудистого свертывания [9,11,12], для оценки влияния лейкоза на эндотелий и гемостаз у больных ОЛ, анализировали данные пациентов, не имевших инфекционных осложнений (таблица 1). Как у больных ОМЛ, так и ОЛЛ, были выявлены высокие уровни маркеров повреждения эндотелия – ТМ, ФВ:Ag, а у больных ОМЛ – ЭТ-1. Помимо этого, у пациентов с ОЛ обнаружено повышение коагуляционной активности ф.VIII, снижение ПТИ, угнетение Хагеман-зависимого фибринолиза, повышение уровней РФМК и Д-димеров. Данные изменения коагулограммы свидетельствуют о наличии гиперкоагуляционного синдрома.

При сравнении результатов исследований больных ОМЛ и ОЛЛ достоверные различия были установлены только для уровней фибриногена – при ОМЛ он был достоверно выше нормы и выше показателей при ОЛЛ. У лиц с ОЛЛ концентрация фибриногена от нормы не отличалась.

Таким образом, выявлено одинаковое влияние лейкозного процесса на систему свертывания крови и дисфункцию эндотелия как при ОМЛ, так и ОЛЛ. На этом основании для дальнейшего анализа результаты больных ОМЛ и ОЛЛ были объединены в одну группу.

С целью оценки воздействия инфекционно-воспалительных процессов на состояние эндотелия и гемостаз у больных с впервые выявленным ОЛ, сравнивали результаты больных без инфекционных осложнений (группа 1) и пациентов с инфекцией (группа 2). Данные представлены в таблице 2. В группе 2 были достоверно повышены уровни ТМ, фибриногена, РФМК, Д-димеров. Снижение уровней ПТИ, тромбоцитов и ПрС указывает на их потребление. Время ХПа-ЗЭЛ, удлиненное под воздействием лейкозного процесса, при инфекции подвергается еще большему увеличению, что подтверждает более интенсивное угнетение Хагеман-зависимого фибринолиза.

Таблица 1 – Сопоставление показателей состояния эндотелия и гемостаза у больных ОЛ, не имевших инфекционных осложнений при манифестации заболевания (медиана, размах)

Показатели	Группы обследованных
------------	----------------------

	ОМЛ (n=28)	ОЛЛ (n=13)	Здоровые лица (n=30)
Тромбомодулин нг/мл	2,10 * (1,0 – 3,38)	1,45 * (0,25 – 3,99)	0,55 1,12–1,98
ФВ:Ag, %	114 * (50 – 208)	141 * (94 – 243)	82 46–146
ЭТ-1, фмоль/мл	0,84 * (0 – 5,75)	0,50 (0,21 – 1,27)	0,38 0–2,19
ПТИ, %	88 * (72 – 115)	86 * (72 – 98)	100 85–114
Индекс АПТВ	1,10 (0,82 – 1,66)	1,01 (0,82 – 1,33)	1,01 0,82–1,24
Фибриноген, г/л	<u>3,8 *</u> <u>(1,5 – 7,0)</u>	<u>2,6</u> <u>(0,9 – 7,2)</u>	2,8 1,9–3,6
ф. VIII, %	140 * (90 – 262)	145* (81 – 241)	100 59–152
АТ III, %	99 (68 – 178)	96 (70 – 184)	105 84–149
Протеин С, %	81 (32 – 129)	93 (49 – 147)	87 64–129
РФМК в ортофенантр. тесте, мкг/мл	75 * (30 – 280)	75 * (30 – 280)	35 30–55
РФМК в этаноловом тесте, баллы	2 * (0 – 3)	2* (0 – 3)	0 0–1
ХПа-ЗЭЛ, мин	13,2 * (5,0 – 45,5)	13,5 * (5 – >65)	7,0 5,0–12,5
Плазминоген, %	99 (58 – 137)	85 (48 – 172)	96 72–139
Д-димеры, баллы	3 * (1 – 7)	2 * (1 – 5)	1 (<500)
Количество тромбоцитов ×10 ⁹ /л	120 * (10 – 697)	90 * (45 – 508)	150 – 400

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно здоровых, подчеркивание – $p < 0,05$ при сопоставлении результатов больных ОМЛ и ОЛЛ.

Таблица 2 – Показатели состояния эндотелия и гемостаза у больных ОЛ в дебюте заболевания (медиана, размах, количество наблюдений)

Показатели	группа 1 (без инфекции)	группа 2 (с инфекцией)	Здоровые лица
------------	----------------------------	---------------------------	------------------

ТМ, нг/мл	<u>1,97 *</u> (0,25 – 3,99), n=20	<u>3,43 *</u> (0,46 – 13,5), n=36	0,55 1,12–1,98
ФВ:Ag, %	134 * (50 – 243), n=34	146 * (60 – 397), n=55	82 46–146
ЭТ-1, фмоль/мл	0,71 * (0 – 5,75), n=24	0,61 * (0,12 – 15,06), n=34	0,38 0–2,19
ПТИ, %	<u>88 *</u> (72 – 115), n=41	<u>84 *</u> (61 – 109), n=67	100 85–114
Индекс АПТВ	1,03 (0,80 – 1,66), n=41	1,00 (0,71 – 1,98), n=66	1,01 0,82–1,24
Фибриноген, г/л	<u>3,4 *</u> (0,9 – 7,2), n=41	<u>4,2 *</u> (1,4 – 8,9), n=67	2,8 1,9–3,6
ф. VIII, %	140 * (181 – 262), n=35	161 * (70 – 291), n=56	100 59–152
АТ III, %	98 (68 – 184), n=39	112 (46 – 248), n=62	105 84–149
ПрС, %	<u>85</u> (32 – 147), n=38	<u>70 *</u> (35 – 154), n=61	87 64–129
РФМК в ортофенантр. тесте, мкг/мл	<u>75 *</u> (30 – 280), n=41	<u>130 *</u> (30 – 285), n=65	35 30–55
РФМК в этаноловом тесте, баллы	2 * (0 – 3), n=41	2 * (0 – 3), n=69	0 0–1
ХШа-ЗЭЛ, мин	<u>13,5 *</u> (5,0 – >65), n=41	<u>25,1 *</u> (5,1 – >65), n=67	7,0 5,0–12,5
Плазминоген, %	99 (48 – 172), n=37	94 (42 – 137), n=61	96 72–139
Д-димеры, баллы	<u>2 *</u> (1 – 7), n=35	<u>5 *</u> (1 – 7), n=62	1 (<500)
Количество тромбоцитов, ×10 ⁹ /л	<u>110 *</u> (10 – 697), n=38	<u>55 *</u> (9 – 325), n=65	150 – 400
СРБ, мг/мл	<u>4*</u> (0 – 33), n=40	<u>45*</u> (2 – 383), n=62	0,0 (0,0 – 2,5)

Примечания: * – p<0,05 относительно здоровых; подчеркивание – p<0,05 при сопоставлении результатов 1 и 2 групп.

Все это свидетельствует о том, что под воздействием инфекции происходит нарастание гиперкоагуляционного синдрома и снижение компенсаторного потенциала организма, так как уменьшение

прокоагулянтной активности может приводить к повышению риска кровотечений, а дефицит ПрС и угнетение фибринолиза – к усиленному тромбообразованию.

В результате проведенных исследований можно сделать заключение, что при манифестации ОЛ развивается нарушение функции эндотелия и активация внутрисосудистого свертывания крови, интенсивность которого не зависит от формы лейкоза.

Одним из наиболее вероятных механизмов реализации внутрисосудистого свертывания при инфекционных осложнениях представляется активация эндотелия провоспалительными цитокинами, выделяемыми лейкоцитами при активации иммунного ответа, а также веществами бактериального происхождения, поступающими в кровоток из мест первичного внедрения инфекции. При контакте с ними эндотелиоциты теряют свойство атромбогенной поверхности, сбрасывая со своей мембраны рецептор ТМ, результатом чего является повышение его концентрации в плазме крови. Кроме этого, усиливаются протромбогенные свойства эндотелия – он секретирует фактор Виллебранда, который задействован в реакциях как тромбоцитарного, так и плазменного гемостаза.

Таким образом, изменения свертывающей системы, происходящие под воздействием неопластического процесса, при присоединении инфекции усугубляются еще более выражено. Они затрагивают все звенья гемостаза: сосудисто-тромбоцитарный, коагуляционный, систему физиологических антикоагулянтов, фибринолиз. Это может приводить к срыву компенсаторных механизмов и развитию у больных ОЛ геморрагических и/или тромботических осложнений.

Список литературы

1. Баркаган, З.С. ДВС-синдром и тромботическая тромбоцитопеническая пурпура при онкогематологических заболеваниях [Текст] / З.С. Баркаган, А.П. Момот // Проблемы клинической медицины. – 2005. - №1. – С. 22-24.
2. Владимирова, С.Г. Показатели гемостаза у больных острым миелоидным лейкозом в период манифестации заболевания [Текст]/ С.Г.Владимирова, Л.Н.Тарасова, О.Ю.Скольская // Онкогематология. – 2012. - №2. – С.36-41.
3. Владимирова, С.Г. Состояние эндотелия и гемостаза у больных с впервые выявленным острым лимфобластным лейкозом [Текст]/ С.Г.Владимирова, О.Ю.Скольская, Л.Н.Тарасова, И.А.Докшина // Клинич.лаб.диагностика. – 2012. - №8. – С.29-33.
4. Папаян, Л.П. Современное представление о механизме регуляции свертывания крови [Текст] / Л.П.Папаян // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2003. - №2. – С.7-11.
5. Петрищев, Н.Н. Типовые формы дисфункции эндотелия [Текст] / Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / под ред. Н.Н.Петрищева. – СПб.: ИИЦ ВМА, 2007. – С.4-48.

6. Савченко, В.Г. Острые лейкозы [Текст]/ В.Г. Савченко, Е.Н. Паровичникова. // Клиническая онкогематология: руководство для врачей / под ред. М.А. Волковой. – М.: «Медицина», 2001. – С. 156-208.
7. Тарасова, Л.Н. Состояние эндотелия и гемостаз при острых лейкозах (обзор литературы) [Текст] / Л.Н.Тарасова, О.Ю.Скольская, С.Г.Владимирова // Терапевт.архив. – 2011. - №7. – С.74-78.
8. Alessio, M.G. Cancer procoagulant in acute lymphoblastic leukemia [Text] / M.G.Alessio, A.Falanga, M.Consonni [et al.] // Eur. J. Haematol. – 1990. - Vol.45. – P.78-81.
9. Barbui, T. Disseminated Intravascular Coagulation in Acute Leukemia [Text]/ T.Barbui, A.Falanga // Seminars in Thrombosis and Hemostasis. – 2001. – Vol.27, №6. - P.593-604.
10. Kwaan, H.C. Double Hazard of Thrombophilia and Bleeding in Leukemia [Text] / H.C.Kwaan // Hematology. – 2007. – №1. – P.151-158.
11. Levi, M. Endothelium: interface between coagulation and inflammation [Text] / M.Levi, H.ten Cate, T.van der Poll // Crit. Care Med. - 2002. – Vol.30(5 Suppl). - S220-224.
12. Levi, M. Infection and inflammation and the coagulation system [Text] / M. Levi, T.T. Keller, E. van Gorp, H. ten Cate // Cardiovasc Res. - 2003. – Vol.60, №1. – P.26-39.
13. Nadir, Y. Hemostatic balance on the surface of leukemic cells: the role of tissue factor and urokinase plasminogen activator receptor [Text]/ Y.Nadir, T.Katz, G.Sarig [et al.] // Haematologica. – 2005. – Vol.90. – P.1549-1556.
14. Szajda, S.D. Cancer procoagulant [Text] / S.D.Szajda, B.Darewicz, M.Gorzal [et al.] // Przegl.Lek. – 2005. - Vol.62, №3. – P.169-172.