

## СЫВОРОТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И ЛИПИДВЫСВОБОЖДАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И СТЕНОКАРДИЕЙ НАПРЯЖЕНИЯ

*В.Ю. Мишланов, В.Е. Владимирский, Л.И. Сыромятникова, Т.А. Половинкина, С.Л. Мишланова*

ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России 614990 Пермь

*Проблема определения факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний остается актуальной. Воспалительные механизмы развития атеросклероза предполагают активное участие нейтрофилов и реализацию липидвысвобождающей способности лейкоцитов (ЛВСЛ), опосредованной синтезом проатерогенных белков с образованием белково-липидных комплексов, накапливающихся в области атеросклеротических повреждений. Нарушение белоксинтезирующей функции и механизмов регуляции ЛВСЛ в последние годы находится в стадии активных исследований. Цель исследования — изучить сывороточные биомаркеры воспаления и ЛВСЛ у больных с артериальной гипертензией (АГ) без ишемической болезни сердца (ИБС) и с АГ в сочетании с ИБС в форме стенокардии напряжения. Для достижения поставленной цели обследованы 2 группы пациентов: 1-ю группу составили 20 больных с АГ без ИБС, 2-ю — 20 больных с АГ в сочетании с ИБС. Группу сравнения составили 18 здоровых лиц. У всех обследуемых определяли ЛВСЛ (in vitro), а также концентрацию интерлейкинов (ИЛ) 6, 8, С-реактивного белка, фактора некроза опухолей α (ФНОα) в сыворотке крови. Кроме того, выполнено экспериментальное исследование (in vitro) влияния ФНОα на ЛВСЛ у больных ИБС. Результаты исследования показали, что средние показатели ЛВСЛ у здоровых лиц и у больных с АГ без ИБС не различались; при этом концентрация ИЛ-8 и С-реактивного белка была значимо выше у больных с АГ. Группу больных с сочетанием АГ и ИБС характеризуют максимально высокие показатели ЛВСЛ, концентрации ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНОα в крови по сравнению с показателями у здоровых и больных с АГ без ИБС. Результаты проведенного экспериментального исследования показали возможность увеличения ЛВСЛ у больных ИБС под влиянием провоспалительных цитокинов (ФНОα).*

*Таким образом, на основании проведенного исследования обозначена роль ЛВСЛ и воспалительных механизмов в развитии ИБС. Определена возможность использования определения ЛВСЛ для диагностики ИБС у больных с АГ.*

*Ключевые слова:* артериальная гипертензия; атеросклероз; ишемическая болезнь сердца; липидвысвобождающая способность лейкоцитов; воспаление.

### SERUM MARKERS OF INFLAMMATION AND LIPID-RELEASING ABILITY OF LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND ANGINA OF EFFORT

*V.Yu. Mishlanov, V.E. Vladimirovsky, L.I. Syromyatnikova, T.A. Polovinkina, S.L. Mishlanova*

E.A. Vagner Perm Medical Academy, Russia

*Detection of cardiovascular risk factors remains a challenging problem. The inflammatory mechanisms behind atherosclerosis imply active involvement of neutrophils and realization of lipid-releasing ability of leukocytes (LRAL) mediated through the synthesis of proatherogenic proteins with the formation of protein-lipid complexes accumulated around atherosclerotic lesions. Studies of compromised protein-synthesizing function and mechanisms regulating LRAL are currently underway. The aim of the present work was to investigate serum markers of inflammation and LRAL in arterial hypertension (AH) without coronary heart disease (CHD) or AH + angina of effort. One group comprised 20 patients with AH without CHD the other included 20 patients with AH and CHD. Control group consisted of 18 healthy subjects. LRAL was measured in vitro in addition to serum IL-6, IL-8, CRP, and TNF-α. Effect of TNF-α on LRAL was evaluated in vitro in CHD patients. It was shown that mean LRAL in healthy subjects and patients with AH without CHD were not significantly different whereas IL-8 and CRP levels were markedly elevated in AH patients. Patients with AH and CHD had maximum LRAL and IL-6, IL-8, CRP, TNF-α levels. The study showed the possibility of increase in LRAL under effect of proinflammatory cytokines. LRFAL and inflammatory mechanisms contribute to the development of CHD and can be used for diagnostics of CHD in AH patients.*

*Key words:* arterial hypertension; atherosclerosis; coronary heart disease; lipid-releasing ability of leukocytes; inflammation.

Атеросклероз — патоморфологическая основа большинства сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) — является одной из наиболее длительно изучаемых проблем кардиологии, при этом его этиопатогенетическая природа остается дискуссионной до настоящего времени [1, 2].

В последние годы особое значение приобрела воспалительная теория атерогенеза [1—4]. Представляется наиболее вероятным, что воспаление является той неспецифической, но стереотипной и универсальной реак-

цией эндотелия, гладкомышечных клеток, лейкоцитов в ответ на повреждение, вызываемое экзо- и эндогенными факторами. В контексте этой теории важно дифференцировать процессы локального и системного воспаления. Локальное воспаление протекает непосредственно в тканях и определяет специфику развивающегося ответа, в то время как системное проявляется определенными нарушениями биохимического и клеточного состава крови, костного мозга, а также изменениями микроциркуляции [2, 4].

Известно, что наличие артериальной гипертензии (АГ) в 3 раза увеличивает риск развития атеросклероза [2, 5]. По всей видимости, при АГ одним из главных факторов, вызывающим нарушение функции эндотелия с последующим вовлечением в процесс воспалительных клеток, является гидравлическое воздействие высокого артериального давления, в частности изменение напряжения сдвига (shear stress) [2, 5].

Вне зависимости от этиологического фактора, запускающего атеросклеротический процесс, неизменными участниками его патогенеза являются лейкоциты. Роль моноцитов, лимфоцитов достаточно хорошо изучена [4, 6]. Малоисследованной остается роль в процессах атерогенеза самой многочисленной фракции лейкоцитов — нейтрофилов [6—9]. Несмотря на короткий период своей жизни, лейкоциты за счет своей многочисленности и функциональной активности составляют «основную линию защиты» человека против бактериальных агентов, участвуют в механизмах неспецифической защиты, в том числе и врожденного иммунитета [10].

Около 10 лет назад была открыта способность нейтрофилов венозной крови к высвобождению белково-липидных комплексов при культивировании лейкоцитов в неполной питательной среде в условиях тесного межклеточного контакта [6]. Липидвысвобождающая способность лейкоцитов (ЛВСЛ) представляет собой экспериментальную, индивидуальную модель хронического воспалительного процесса *in vitro*, которая имитирует механизм атерогенеза в сосудистой стенке. Вместе с тем ЛВСЛ реализуется путем синтеза белков и пептидов, способных связывать холестерин с образованием белково-липидных комплексов. Установлено, что ЛВСЛ коррелирует с клиническими проявлениями ишемической болезни сердца (ИБС) и рассматривается авторами как независимый фактор риска развития атеросклероза, маркер активности атеросклеротического процесса [7]. Недостаточно изученными остаются вопросы контроля ЛВСЛ провоспалительными цитокинами, высвобождение которых различными клетками организма изменяется у больных с атеросклерозом [4]. Полученные данные определяют необходимость продолжения исследования вклада ЛВСЛ в прогрессирование атеросклеротического процесса у больных на разных этапах сердечно-сосудистого континуума, в том числе у больных с АГ.

В связи с этим нами поставлена цель — изучить сывороточные биомаркеры воспаления и ЛВСЛ у больных с АГ без ИБС и с АГ в сочетании с ИБС в форме стенокардии напряжения.

## Материал и методы

Для достижения поставленной цели были сформированы 2 основные группы обследуемых: 1-ю группу составили 20 больных с изолированным течением АГ I—II стадии без ИБС, 2-ю группу — 20 больных с АГ в сочетании с ИБС в виде стенокардии напряжения II—III функционального класса (ФК) с признаками хронической сердечной недостаточности не выше II ФК по NYHA. Группу сравнения составили 18 практически здоровых лиц.

Критериями исключения для формирования однородных групп и минимизации случайных ошибок были сахарный диабет, нарушение толерантности к глюкозе, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, кардиомиопатии, миокардиты, пороки сердца, инфаркт миокарда, перенесенный ранее 1 года до начала обследования, нарушение функции щитовидной железы, острые воспалительные заболевания или обострения хронических воспалительных заболеваний в течение 2 нед до включения в группы исследования, значимые нарушения ритма сердца и проводимости.

Средний возраст больных 1-й группы составил

55±7,79 года, 2-й — 60,9±7,52 года. Возрастных различий между основными группами, а также с практически здоровыми лицами, средний возраст которых составлял 57±6,63 года (минимальный 49 лет, максимальный 65 лет), не выявлено. Группы были сопоставимы по полу; преобладали мужчины: в 1-й группе — 60%, во 2-й — 55%, в группе сравнения — 61%.

Программа обследования пациентов предусматривала изучение данных анамнеза и проведение лабораторных исследований с определением сывороточной концентрации белков и цитокинов методом иммуноферментного анализа, а также показателей ЛВСЛ *in vitro*. Для изучения регуляции ЛВСЛ был поставлен эксперимент на лейкоцитарных культурах больных с АГ в сочетании с ИБС с добавлением в ходе культивирования фактора некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ).

Методом иммуноферментного анализа определяли сывороточные концентрации С-реактивного белка — СРБ, ФНО $\alpha$ , интерлейкина (ИЛ) 6, 8 (все — с помощью тест-наборов фирмы «Вектор-Бест-Урал», Новосибирск).

Исследование ЛВСЛ проводили в иммунологической лаборатории ЦНИЛ ГБОУ ВПО ПГМА им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России по авторскому методу А.В. Туева, В.Ю. Мишланова (патент № 2194995, 2002 г.). Для этого из венозной крови больного в стерильных условиях выделяли лейкоцитарную взвесь, используя метод отстаивания в центрифужных пробирках смеси венозной крови и раствора полиглюкина в соотношении 5:3. Суспензию лейкоцитов тщательно отмывали от полиглюкина; в первый раз путем ресуспендирования в изотоническом растворе натрия хлорида с последующим центрифугированием для осаждения клеток, во второй раз отмывку производили в питательной среде Игла. После отмывки лейкоциты ресуспендировали в питательной среде. Производили количественный подсчет выделенных клеток и готовили взвесь, содержащую 50 000 лейкоцитов в 1 мкл среды. Соотношение лейкоцитов в выделенной суспензии приближалось к таковому в цельной крови в виде значительного (60—80%) преобладания нейтрофилов. После строгого количественного учета 400 мкл суспензии лейкоцитов культивировали при 37°C в течение 3 сут в неполной питательной среде в пенициллиновых флаконах. Через 3 сут в надосадочной жидкости определяли содержание общего холестерина холестериноксидазным методом (тест-набор фирмы «Human», Германия).

Экспериментальное исследование *in vitro* заключалось в изучении участия ФНО $\alpha$  в регуляции ЛВСЛ у больных 2-й группы. Для решения этой задачи проводили сравнительную оценку показателя в контрольной (с добавлением 20 мкл внесенной извне питательной среды) и опытной (с добавлением 20 мкл внесенного извне раствора ФНО $\alpha$  в конечной концентрации 0,005 мкг/мл) пробках — культурах лейкоцитов. В обеих пробках (контрольной и опытной) объем взвеси составлял 400 мкл с содержанием 50 000 лейкоцитов в 1 мкл питательной среды Игла. Опытный и контрольный образцы инкубировали в течение 62 ч при 37°C в термостате в условиях имитации 5% CO<sub>2</sub> среды. После инкубации взвесь осторожно ресуспендировали с помощью ручного дозатора вместимостью 200 мкл, центрифугировали в течение 5 мин при 400 g. После этого осторожно забирали надосадочную жидкость и определяли в ней концентрацию холестерина холестериноксидазным методом с помощью набора реактивов фирмы «Human» (Германия). Полученные результаты обозначали как спонтанную ЛВСЛ (контрольный образец) и ЛВСЛ, индуцированную ФНО $\alpha$  (опытный образец).

Статистическая обработка материала проведена при помощи программного пакета Statistica 6.0. Характеристика групп при неправильном характере распре-

Таблица 1. Концентрация ИЛ-8 и СРБ в сыворотке крови у больных 1-й группы

Показатель	Число больных	Me	P 10%	P 90%	$\sigma$
ИЛ-8, пг/мл	20	8,30	4,90	27,30	9,39
СРБ, нг/мл	20	6,54	1,17	10,32	3,98

Примечание. Здесь и в табл. 2: Me — медиана; P 10% — 10%-й процентиль; P 90% — 90%-й процентиль;  $\sigma$  — среднее квадратическое отклонение.

ления представлена с учетом медианы и процентилей; при правильном распределении признака использовали значения среднего и стандартного отклонения ( $M \pm \sigma$ ). Сравнение двух независимых выборок осуществляли с использованием непараметрического критерия Манна—Уитни. Для количественного сравнения групп рассчитывали доверительный интервал. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ . Выполняли корреляционный анализ и рассчитывали коэффициент Спирмена.

### Результаты и обсуждение

Показатель ЛВСЛ у больных 1-й группы составил  $0,12 \pm 0,03$  ммоль/л, в группе сравнения —  $0,12 \pm 0,050$  ммоль/л при нормальном распределении признака. Статистически достоверных различий показателей ЛВСЛ у больных с АГ I—II стадии и практически здоровых лиц не выявлено.

Содержание ИЛ-6 и ФНО $\alpha$  в сыворотке крови у пациентов 1-й группы не превышало нормальных значений согласно рекомендациям используемых тест-наборов. Показатели концентрации ИЛ-8 и СРБ у больных 1-й группы приведены в табл. 1. Результаты исследования цитокинового спектра у больных 1-й группы выявили превышения верхней границы нормы: в 3,5 раза по медиане показателя ИЛ-8 (при норме не более 3 пг/мл), в

Таблица 2. Концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп

Показатель	1-я группа	2-я группа	$p$
ФНО $\alpha$ , пг/мл:			0,030
Me	3,55	4,3	
P 10%	1,9	0,60	
P 90%	9,0	25,1	
$\sigma$	2,9	8,07	
ИЛ-6, пг/мл:			0,002
Me	0,71	2,6	
P 10%	0,0	0,0	
P 90%	7,3	16,54	
$\sigma$	2,58	5,71	
ИЛ-8, пг/мл:			0,01
Me	8,3	22,8	
P 10%	4,9	3,0	
P 90%	27,3	160,7	
$\sigma$	9,39	49,90	
СРБ, нг/мл:			0,401
Me	6,54	7,05	
P 10%	1,17	1,7	
P 90%	10,32	10,4	
$\sigma$	3,98	3,44	

Таблица 3. Характер взаимосвязи ЛВСЛ с сывороточными биомаркерами воспаления у больных 2-й группы

Показатель	R	$p$
ЛВСЛ и ФНО $\alpha$	0,30	0,08
ЛВСЛ и ИЛ-6	0,39	0,02
ЛВСЛ и ИЛ-8	0,34	0,05
ЛВСЛ и СРБ	0,097	0,60

Таблица 4. Прогностическая значимость признаков у больных 1-й группы

Показатель	F-критерий	$p$
ЛВСЛ	25,2	0,01
ИЛ-6	10,09	0,01
ИЛ-8	6,1	0,01

1,3 раза по медиане значений СРБ (при верхней границе нормы до 3 нг/мл).

Показатель ЛВСЛ во 2-й группе составил  $0,16 \pm 0,03$  ммоль/л, что существенно превышает значения этого показателя в группе сравнения  $0,12 \pm 0,05$  ммоль/л ( $p = 0,001$ ).

Выявлены статистически значимые различия показателей ЛВСЛ у больных с АГ в зависимости от наличия ИБС: в 1-й группе показатель составил  $0,12 \pm 0,03$  ммоль/л, во 2-й —  $0,16 \pm 0,03$  ммоль/л ( $p = 0,008$ ).

В процессе исследования нами подтверждены данные литературы, свидетельствующие о высоком показателе ЛВСЛ у больных стенокардией напряжения [8].

Средняя концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови у больных 2-й группы превышала норму (более 2 пг/мл) и значимо отличалась от показателя у больных 1-й группы (табл. 2).

Как было сказано выше, в основных группах средние концентрации ИЛ-8 превышали верхнюю границу нормы с выявлением более высоких значений у больных 2-й группы по сравнению с показателями у больных 1-й группы ( $p = 0,001$ ). Отмечено также достоверное повышение концентрации ФНО $\alpha$  в сыворотке крови у больных 2-й группы по сравнению с 1-й, однако статистически значимых различий содержания СРБ в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп не выявлено. У всех обследуемых концентрация в сыворотке крови СРБ превышала верхнюю границу нормы (3 нг/мл). Обобщенные данные по полученным показателям провоспалительных цитокинов представлены в табл. 3.

Таким образом, становление АГ сопровождается повышением уровня СРБ и ИЛ-8. Прогрессирование сердечно-сосудистой патологии от АГ без ИБС к АГ в сочетании с ИБС ассоциировано с достоверным ростом провоспалительного потенциала в виде повышения концентрации таких сывороточных цитокинов, как СРБ, ИЛ-6 и ИЛ-8, ФНО $\alpha$ .

При проведении корреляционного анализа получена зависимость средней силы между показателями ЛВСЛ и ИЛ-6, ИЛ-8 у больных 2-й группы. Полученные данные позволяют утверждать, что ЛВСЛ необходимо рассматривать в качестве составляющей системной воспалительной реакции (табл. 3).

Построение прогностической модели развития атеросклероза при АГ выполнено на материале, полученном при обследовании больных 1-й и 2-й групп. При унивариантном регрессионном анализе предикторная ценность выявлена в отношении показателей ЛВСЛ, ИЛ-6 и ИЛ-8 (табл. 4).

При проведении многофакторного регрессионного анализа наряду со значениями сывороточных биомаркеров в анализ были включены такие показатели, как длительность АГ, пол, возраст, СОЭ. В мультивариантной модели ИЛ-6 и ИЛ-8 утратили свою прогностическую ценность; при этом независимым предиктором развития атеросклеротического поражения сосудов у больных с АГ оказался показатель ЛВСЛ ( $F = 17,84, p = 0,001$ ).

Анализ точек разделения 1-й и 2-й групп больных по показателю ЛВСЛ выявил, что при значении  $0,147$  ммоль/л чувствительность этого показателя равна специфичности и составляет 75% в сочетании с достаточно высокой прогностической ценностью положительного 75% и отрицательного 71% результатов.

В проведенном экспериментальном исследовании *in vitro* установлено, что во всех 9 (100%) экспериментах добавление в культуральную среду ФНО $\alpha$  в дозе  $0,005$  мкг/мл вызывало повышение ЛВСЛ. Средний показатель ЛВСЛ до внесения ФНО $\alpha$  составил  $0,15 \pm 0,051$  ммоль/л, после —  $0,35 \pm 0,237$  ммоль/л. Различия между группами статистически достоверно ( $p = 0,027$ ).

Анализ полученных результатов позволяет выделить следующие закономерности развития атеросклероза у больных с АГ. Значение ЛВСЛ в пределах нормальных границ у больных 1-й группы свидетельствует об отсутствии признаков локального (тканевого) воспаления сосудистой стенки у пациентов с начальными стадиями АГ без клинических проявлений атеросклероза. В то же время наличие АГ ассоциировано с повышением концентрации ИЛ-8 и СРБ. Известно, что именно ИЛ-8 активирует нейтрофилы, в меньшей степени другие гранулярные лейкоциты, вызывая их хемотаксис в очаг воспаления. Повышенный уровень ИЛ-8 ассоциирован с острыми и хроническими воспалительными состояниями, коррелирует с параметрами тканевой инфильтрации нейтрофилов [3, 5]. Остается, однако, открытым вопрос, какой фактор инициирует повышение уровня ИЛ-8 и СРБ у больных с АГ. Возможной причиной цитокинемии является каскад патогенетических событий, обусловленный эндотелиальной дисфункцией, которая имеет место уже в начальных стадиях АГ [1, 2].

#### Сведения об авторах:

*Пермская государственная медицинская академия им. Е.А. Вазнера*

*Кафедра пропедевтики внутренних болезней*

Мишланов Виталий Юрьевич — д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой; e-mail: permmmed@hotmail.com

Владимирский Владимир Евгеньевич — канд. мед. наук, доцент кафедры.

Сыромятникова Людмила Илариевна — д-р мед. наук, доцент кафедры.

Половинкина Татьяна Александровна — аспирант кафедры.

*Кафедра иностранных языков*

Мишланова Светлана Леонидовна — д-р филол. наук, проф. кафедры.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гуревич В.С. Современные представления о патогенезе атеросклероза. *Болезни сердца и сосудов*. 2006; 1 (4): 1—4.
2. Лутай М.И. Атеросклероз: современный взгляд на атеросклероз. *Украинский кардиологический журнал*. 2004; 1: 22—36.
3. Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса (гипотеза). *Биохимия*. 2000; 4: 3—10.
4. Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115—26.
5. Белоусов Ю.Б., Намсараев Ж.Н. Эндотелиальная дисфункция как причина атеросклеротического поражения артерий при артериальной гипертензии: методы коррекции. *Фарматека*. 2004; 6: 62—72.
6. Мишланов В.Ю., Туев А.В., Шутов А.А. и др. Метод липид-высвобождающей способности лейкоцитов в диагностике механизмов атерогенеза у больных ишемической болезнью сердца и атеротромботическим вариантом мозгового инсульта. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2006; 5: 9—12.

Результаты проведенного экспериментального исследования свидетельствуют о возможности регуляции ЛВСЛ у больных ИБС провоспалительными цитокинами (ФНО $\alpha$ ).

Повышенный показатель ЛВСЛ является важным маркером развития тканевого (локального) воспаления у больных с АГ. ЛВСЛ отражает функциональную способность нейтрофилов к синтезу проатерогенных белков, входящих в состав белково-липидных комплексов, которые участвуют в атерогенезе.

Таким образом, в результате проведенного исследования обозначена роль ЛВСЛ, продемонстрировано значение воспалительных механизмов в атерогенезе у больных с АГ. Определена возможность использования показателя диагностики ЛВСЛ в качестве раннего маркера атеросклероза у больных 1-й группы (АГ без ИБС).

#### Выводы

1. Липидвысвобождающая способность лейкоцитов отражает изменения белоксинтезирующей функции нейтрофилов, стимулируемой провоспалительными цитокинами у больных с атеросклерозом.
2. Средний показатель липидвысвобождающей способности лейкоцитов у больных с артериальной гипертензией без ишемической болезни сердца соответствует таковому практически здоровых лиц.
3. Повышение уровня интерлейкина 8 и С-реактивного белка отличает больных с артериальной гипертензией от здоровых лиц.
4. В группе больных с сочетанием ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии установлено повышение изучаемого показателя по сравнению с показателями у больных с артериальной гипертензией без ишемической болезни сердца и здоровых лиц, что указывает на прогностическое значение этого показателя в отношении развития атеросклероза и ишемической болезни сердца у больных с артериальной гипертензией.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 11-04-96021 и субсидии Правительства Пермского края, соглашение № С-26/631 от 19.12.2012.

7. Туев А.В., Мишланов В.Ю. Экспериментальные предпосылки новой теории атерогенеза. В кн.: *Болезни сердечно-сосудистой системы: теория и практика: Материалы I Съезда кардиологов Приволжского и Уральского Федеральных округов Российской Федерации*. Пермь; 2003: 258—65.
8. Gach O, Nys M., Deby-Dupont G. Acute neutrophil activation in direct stenting: Comparison of stable and unstable angina patients. *Int. J. Cardiol.* 2006; 112 (1): 59—65.
9. Haumer M., Amighi J., Exner M. Association of neutrophils and future cardiovascular events in patients with peripheral artery disease. *J. Vasc. Surg.* 2005; 41 (4): 610—7.
10. Yang D., Biragyn A., Kwak L. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trend Immunol.* 2002; 23: 291—6.

#### REFERENCES

1. Gurevich B.C. Modern views on the pathogenesis of atherosclerosis. *Diseases of the heart and blood vessels*. 2006; 1 (4): 1—4 (in Russian).
2. Lutaj M.I. Atherosclerosis: the modern view of atherosclerosis.

- Ukrainian Journal of Cardiology. 2004; 1: 22—36 (in Russian).
3. Titov V.N. The generality of atherosclerosis and inflammation: the specificity of atherosclerosis as an inflammatory process (hypothesis). *Biochemistry*. 2000; 4: 3—10 (in Russian).
  4. Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115—26.
  5. Belousov Ju.B., Namsaraev Zh.N. Endothelial dysfunction as a cause of atherosclerotic arteries in hypertension: correction methods. *Farmateka*. 2004; 6: 62—72 (in Russian).
  6. Mishlanov V.Ju., Tuev A.V., Shutov A.A. Method lipid-releasing leukocytes ability in the diagnosis of mechanisms atherosclerosis in patients with coronary heart disease and variant atherothrombotic stroke. *Clinical and laboratory diagnosis*. 2006; 5: 9—12 (in Russian).
  7. Tuev A.V., Mishlanov V.Ju. The experimental conditions of the new theory of atherogenesis. *Diseases of the cardiovascular system: Theory and Practice: Articles I Congress of Cardiology of the Volga and Ural Federal Districts of the Russian Federation*. Perm. 2003: 258—65 (in Russian).
  8. Gach O., Nys M., Deby-Dupont G. Acute neutrophil activation in direct stenting: Comparison of stable and unstable angina patients. *Int. J. Cardiol.* 2006; 112 (1): 59—65.
  9. Haumer M., Amighi J., Exner M. Association of neutrophils and future cardiovascular events in patients with peripheral artery disease. *J. Vasc. Surg.* 2005; 41 (4): 610—7.
  10. Yang D., Biragyn A., Kwak L. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trend Immunol.* 2002; 23: 291—6.

Поступила 05.06.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.1-005.6-07:616.153.962.4

## ОДНОВРЕМЕННОЕ КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТВОРИМОГО ФИБРИНА И D-ДИМЕРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ УГРОЗЫ ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ

Е.В. Луговской<sup>1</sup>, И.Н. Колесникова<sup>1</sup>, Т.Н. Платонова<sup>1</sup>, Н.Е. Луговская<sup>1</sup>, Л.М. Литвинова<sup>1</sup>,  
Е.П. Костюченко<sup>1</sup>, Т.М. Чернышенко<sup>1</sup>, Л.А. Ганова<sup>2</sup>, Н.Я. Спивак<sup>2</sup>, С.В. Комиссаренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины, 01601 Киев, ул. Леонтовича, 9, Украина; <sup>2</sup>АТЗТ НПК «Диапроф-Мед», 01034 Киев, ул. Светлицкого, 35, Украина

*Наиболее специфическими маркерами активации коагуляционного каскада крови и угрозы тромбообразования являются растворимый фибрин и D-димер. Разработаны две иммуноферментные тест-системы с использованием фибрин-специфических и D-димер-специфических моноклональных антител. Проведены испытания тест-систем в клинических учреждениях Украины. Показана высокая информативность количественного определения растворимого фибрина как прогностического показателя угрозы тромбообразования при эндопротезировании тазобедренного сустава и брюшной аорты. Определение только одного D-димера является малоинформативным. Для прогнозирования послеоперационных тромботических осложнений, а также для контроля эффективности антитромботической терапии необходимо одновременное количественное определение растворимого фибрина и D-димера до операции и в разные периоды после операции. Только в этом случае можно получить информацию о состоянии баланса между системами свертывания крови и фибринолиза и определить степень угрозы тромбообразования.*

*Ключевые слова:* растворимый фибрин; D-димер; иммунодиагностические тест-системы; угроза тромбообразования.

### SIMULTANEOUS QUANTIFICATION OF SOLUBLE FIBRIN AND D-DIMER IN BLOOD PLASMA FOR THE ASSESSMENT OF THE THREAT OF THROMBOSIS

E.V. Lugovskoy<sup>1</sup>, I.N. Kolesnikova<sup>1</sup>, T.N. Platonova<sup>1</sup>, N.E. Lugovskaya<sup>1</sup>, L.M. Litvinova<sup>1</sup>, E.P. Kostyuchenko<sup>1</sup>,  
T.M. Chernyshenko<sup>1</sup>, L.A. Ganova<sup>2</sup>, N.Ya. Spivak<sup>2</sup>, S.V. Komissarenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>A.V. Palladin Institute of Biochemistry, Kiev, Ukraine; <sup>2</sup>SPC «Diaproph-Med», Kiev, Ukraine

*Soluble fibrin and D-dimer are the most specific markers of blood coagulation cascade and the threat of thrombosis. Two immunoassay test systems were designed using the fibrin-specific and D-dimer-specific monoclonal antibodies. The clinical trials of the test systems were carried out in Ukraine. The high informative value of soluble fibrin quantification as a prognostic indicator of the threat of thrombosis associated with hip replacement and endoprosthetics of the abdominal aorta was shown. Independent D-dimer quantification is less informative. Simultaneous quantification of soluble fibrin and D-dimer before operation and at different time intervals after it is required for the prediction of postoperative thrombotic complications and monitoring the efficiency of antithrombotic therapy. Only in this case it is possible to get information about the state of the balance between blood coagulation and fibrinolytic systems, and determine the degree of the threat of thrombosis.*

*Key words:* soluble fibrin; D-dimer; ELISA test systems; the threat of thrombosis.

Тромбозы различной локализации часто являются причиной инвалидности либо летального исхода при сердечно-сосудистых заболеваниях. В немалой степени это объясняется тем, что диагностика тромбозов только на основании клинических проявлений не всегда бывает точной. В настоящее время существует ряд методов диагностики тромботических заболеваний, однако высокая частота отрицательных результатов и ограниченная до-

ступность методик для ежедневной клинической практики привели к необходимости создания новых тестов, доступных для широкого использования в лабораторной практике и позволяющих получать наиболее полные сведения о состоянии системы гемостаза и угрозе тромбообразования [1, 2]. Наиболее информативные лабораторные методы диагностики тромбофилии основаны на количественном определении в образцах цитратной