

УДК 616.12-008.46-039

*В. М. Шмелева¹, О. Н. Семенова², Л. П. Папаян¹, С. И. Ягашкина³***АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**¹Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, Санкт-Петербург²Лечебно-диагностический, реабилитационный и научный центр для жителей блокадного Ленинграда, Санкт-Петербург³Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург

В последние годы в клинической кардиологии большое внимание уделяется диагностике маркеров риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний и тромбообразования. Своевременное выявление у пациента предикторов неблагоприятного течения заболевания имеет огромное практическое значение, так как позволяет осуществлять адекватное лечение и профилактику тромбоэмболических осложнений.

Многочисленными исследованиями доказана роль провоспалительных цитокинов в развитии хронической сердечной недостаточности (ХСН). Воспаление тесно связано с активацией системы гемостаза и инициирует развитие прокоагулянтных изменений при ХСН. Активация системы гемостаза сопровождается появлением в кровотоке специфических маркеров, отражающих степень повышения гемостатического потенциала крови. К таким показателям, в частности, относятся фибриноген, D-димер, фактор Виллебранда. В работе Rumley A. и соавт. [1] показано, что между возрастными группами 60–64 года и 75–79 лет наибольшие различия выявляются по D-димеру (91 %) и антигену фактора Виллебранда (23 %), меньшие — по фибриногену (8 %). По мнению авторов именно указанные изменения могут быть причиной повышения риска артериальных тромбозов в старческом возрасте.

Фибриноген — один из наиболее изучаемых компонентов системы гемостаза. В механизме свертывания крови фибриноген занимает исключительное положение, так как представляет собой единственный субстрат, из которого под действием протеолитического фермента тромбина возникает волокнистая сеть фибрина — материальная основа сгустка, предупреждающего потерю крови. Фибриноген является одним из наиболее крупных и гетерогенных гликопротеинов. После завершения синтеза в печени фибриноген секретируется в кровь и его концентрация достигает оптимального для образования сгустка уровня [2]. По данным ряда авторов повышенные уровни фибриногена достоверно ассоциированы с развитием острого инфаркта миокарда (ОИМ), инсульта и поражением периферических артериальных сосудов. Повышение уровня фибриногена считается прогностическим маркером развития периферического облитерирующего атеросклероза по данным Эдинбургского исследования [3], а также инфаркта и инсульта по данным Northwick Park Heart Study, Gothenburg study, PROCAM study [4, 5]. В американском проспективном исследовании, охватившем 114916 здоровых врачей, относительный риск развития ОИМ у лиц с уровнем фибриногена более 3,43 (верхние 10 % выборки) повышался в 2 раза по сравнению с остальными 90 % выборки [6, 7].

© В. М. Шмелева, О. Н. Семенова, Л. П. Папаян, С. И. Ягашкина, 2009

Очень чувствительным маркером активации коагуляционного гемостаза является D-димер, который представляет собой продукт деградации поперечно-сшитого фибрина плазмином. Фибрин, являясь конечным продуктом свертывания крови, служит субстратом для фибринолитической системы. Плазмин вызывает последовательное расщепление фибрина и фибриногена на мелкие фрагменты, так называемые продукты деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) [2]. Плазмин не способен разорвать ковалентную связь между D-доменами, поэтому продукты деградации фибрина представляют собой более крупные фрагменты — D-димеры. Повышение D-димера указывает на активацию фибринолиза, чему обязательно предшествует тромбоз и избыточное образование нерастворимого фибрина. Фибрин образуется в результате каскада протеолитических реакций, ключевым моментом в котором является формирование тромбина. В обширном исследовании Cardiovascular Health Study (4510 обследованных) было доказано, что D-димер — значимый предиктор острых сосудистых событий у пациентов старших возрастных групп [8]. В ряде зарубежных работ показано, что повышение D-димеров ассоциировано с повышенной смертностью при ХСН [9].

В физиологических условиях существует баланс между синтезом в эндотелии тромбогенных и атромбогенных субстанций. Следствием структурно-функциональных нарушений эндотелия является увеличение синтеза и секреции эндотелиоцитами тромборегуляторов и, следовательно, появление последних в циркуляции [10]. Один из наиболее часто используемых в клинической практике маркеров эндотелиальной дисфункции — фактор Виллебранда. Фактор Виллебранда принадлежит к семейству адгезивных белков и представляет собой гетерогенную популяцию гликопротеиновых мультимеров, которые регулируют адгезию тромбоцитов к поврежденным тканям сосудов и агрегацию тромбоцитов при высоком напряжении сдвига. Наряду с этим фактор Виллебранда действует как белок-носитель, защищающий фактор VIII от протеолиза *in vivo*. Фактор Виллебранда синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах [2]. Повышенное содержание фактора Виллебранда отмечается как острофазовая реакция, а также при состояниях, сопровождающихся повреждением сосудистой стенки [11]. При этом фактор Виллебранда является достаточно специфичным маркером повреждения сосудистой стенки и свидетельствует об активации гемостатических процессов [12].

На основании результатов зарубежных работ последних лет можно заключить, что перечисленные выше показатели системы гемостаза, являющиеся маркерами активации гемостатических реакций и предикторами тромбообразования в артериальном и/или венозном русле, с высокой частотой встречаются в старших возрастных группах [1]. Данные о частоте прокоагулянтных нарушений у больных ХСН пожилого и старческого возраста в популяции Северо-Западного региона России и жителей блокадного Ленинграда практически отсутствуют. Необходимо также подчеркнуть, что скрининговые показатели коагулограммы в подавляющем большинстве случаев неинформативны.

В связи с вышесказанным была поставлена следующая цель исследования: оценить состояние системы гемостаза у пациентов пожилого и старческого возраста с ХСН, обусловленной ишемической болезнью сердца (ИБС), жителей блокадного Ленинграда, используя специфичные маркеры активации гемостатических реакций и повреждения сосудистой стенки.

Исходя из цели исследования решались задачи: 1) определить содержание фибриногена, D-димера и активность фактора Виллебранда в обследуемой группе; 2) проанализировать наличие корреляционных связей между исследуемыми показателями гемостаза, демографическими показателями и особенностями клинического течения ХСН у жителей блокадного Ленинграда.

Материалы и методы исследования. В ходе данной работы было обследовано 90 больных с ХСН, обусловленной ИБС (15 мужчин и 75 женщин), в возрасте от 65 до 87 лет (средний возраст $73,2 \pm 1,8$ года). Контрольную группу составили 50 доноров крови. Всем пациентам проводилось клиническое обследование, клинические и биохимические исследования крови; инструментальное обследование включало ЭКГ, ЭХО КГ. У всех пациентов диагностирована ХСН высоких функциональных классов (III–IV), обусловленная ишемической болезнью сердца. Давность тромбоэмболических осложнений у обследуемых больных на момент обследования составила не менее двух лет, что исключало трактовку изучаемых показателей как маркеров острого тромботического эпизода.

Определение содержания фибриногена, протромбинового теста и биохимических показателей проводилось в лаборатории Лечебно-диагностического, реабилитационного и научного центра для жителей блокадного Ленинграда. Фибриноген определяли хронометрическим методом (по Клауссу), основанным на установлении времени свертывания разведенной плазмы избытком высокоактивного тромбина. Исследование содержания D-димера и активности фактора Виллебранда проводилось в лаборатории свертывания крови ФГУ «РосНИИГТ Росмедтехнологий». Материалом для исследования служила венозная кровь. Образцы крови получали в утреннее время путем пункции локтевой вены иглой диаметром 0,9 мм, самотеком. Кровь стабилизировали 3,8 %-ным раствором цитрата натрия. Для определения D-димера использовали набор реагентов фирмы «Рош» (Франция). Метод основан на латексной агглютинации. К исследуемой плазме добавляют латексные шарики, покрытые антителами против D-димера, и отмечают время появления макроскопической агглютинации. В норме концентрация D-димера не превышает 500 нг FEU (фибриноген эквивалентных единиц)/мл.

Для оценки активности фактора Виллебранда использовали метод ристомицинокфакторной активности фактора Виллебранда (VWF R: Co) с донорскими тромбоцитами [13]. Для постановки теста использовали бестромбоцитную плазму пациента (источник фактора Виллебранда), стандартную взвесь формализированных тромбоцитов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия, Барнаул) и пул донорской бестромбоцитной плазмы.

Статистический анализ проводился при помощи пакетов Stat Pad Prism (версия 2) и Statistica 6,0 в среде Windows.

Результаты исследования. Скрининговые показатели коагулограммы практически у всех обследуемых были в пределах нормы. Содержание фибриногена превышало нормальные значения лишь у 6,8 % больных и у 15 % пациентов приближалось к верхней границе нормы. В обследуемой группе не прослеживалась корреляция между уровнем фибриногена и такими показателями, как возраст, пол, функциональный класс ХСН. Достоверной была корреляция фибриногена с показателями липидного обмена (с ЛПОНП $r = 0,53, p = 0,001$; с триглицеридами $r = 0,47, p = 0,005$; с индексом атерогенности $r = 0,43, p = 0,01$) и диастолическим артериальным давлением ($r = 0,45, p = 0,005$ при поступлении и $r = 0,34, p = 0,06$ при выписке).

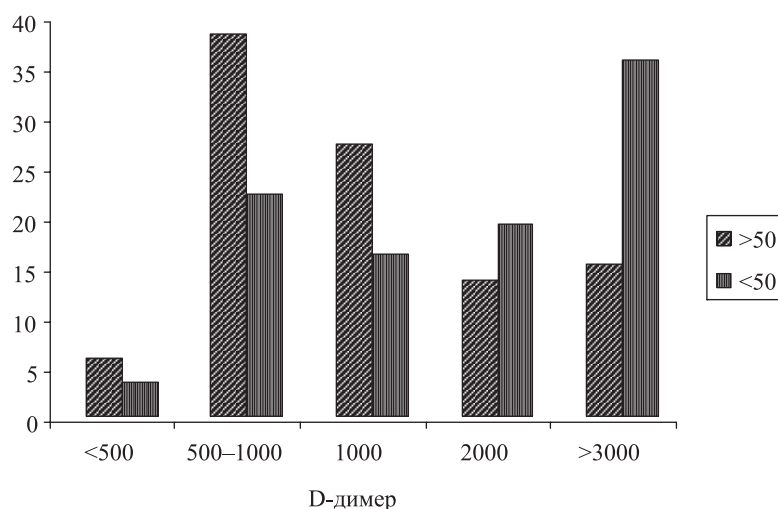
Среднее значение активности фактора Виллебранда у больных ХСН достоверно превышало среднее значение в контрольной группе (183 против 99,5 % соответственно, $p < 0,0001$). Активность фактора Виллебранда превышала верхнюю границу нормальных колебаний (180 %) в 45 % наблюдений. При этом в 16,6 % случаев активность фактора Виллебранда превышала 250 %, т. е. была значительно повышена. Частота превышения верхней границы нормы активности фактора Виллебранда была одинаковой (43,3 %) при III и IV функциональном классе ХСН и не зависела от фракции выброса. Использование корреляционного анализа также не позволило установить достоверную корреляционную

зависимость между VWF R: Co (%) и такими показателями, как возраст, фракция выброса, показатели липидного обмена, артериальное давление.

Нормальный уровень D-димера был выявлен только у 4 (4,8 %) больных из всех обследованных; уровень от 500 нг/мл до 1000 нг/мл — у 32 %, 1000 нг/мл — у 22,6 %, 2000 нг/мл — у 15,4 %, 3000 нг/мл и более — у 24 %. Частота повышения D-димера в зависимости от возраста представлена в таблице.

Частота повышения уровня D-димера в зависимости от возраста, %

Уровень D-димера, нг/мл	80–87 лет	75–79 лет	70–74 года	65–69 лет
500–1000	27	31	23	42
1000	27	18,7	23	19
2000	22	9	23	14
>3000	22	28	30	19



Частота повышения уровня D-димера (%) в зависимости от фракции выброса

Частота повышения D-димера в зависимости от фракции выброса представлена на рисунке. Как видно из диаграммы, для фракции выброса менее 50 % характерно существенное нарастание частоты значений D-димеров 2000 нг/мл и еще в большей степени — значений выше 3000 нг/мл, т. е. максимальной активации фибринолиза, что, в свою очередь, невозможно без выраженной тромбинемии.

Обсуждение. Активное изучение фибриногена как предиктора повышения смертности от сердечно-сосудистой патологии началось после публикации Meade и соавт. в 1980 г. К настоящему времени опубликованы результаты более 30 проспективных исследований, посвященных рассматриваемой проблеме, подавляющее большинство которых подтверждает значимую роль фибриногена как в индукции, так и в прогрессии атеротромбоза. Показано, что нарастание фибриногена в плазме является фактором риска инсультов, периферического атеросклероза, рестеноза после аортокоронарного шунтирования и ангиопластики, сердечной недостаточности [7, 14–16]. Тот факт, что в настоящем исследовании не получено данных, позволяющих использовать фибриноген в качестве чувствительного маркера активации системы гемостаза, возможно, объясняется наличием

специфических особенностей обследуемых пациентов с ХСН, а именно, перенесенная блокада, что требует дальнейшего детального изучения.

Продемонстрированное в более ранних исследованиях увеличение уровня плазменного фибриногена на 5–7 % каждые 10 лет жизни характерно в большей степени для лиц в возрасте до 65 лет, в то время как средний возраст больных ХСН, включенных в нашу работу, составил 73 года. Согласно опубликованным популяционным данным уровень фибриногена зависит также от пола. По полученным нами результатам у лиц пожилого и старческого возраста достоверных различий показателей фибриногена от пола не отмечается.

Зарубежными авторами установлена корреляция между массой тела и уровнем фибриногена, а также между увеличением фибриногена и нарастанием ЛПНП и снижением ЛПВП [6]. Наши результаты полностью согласуются с положением о тесном взаимодействии между нарушениями обмена липидов и содержанием фибриногена в плазме. Полученные коэффициенты корреляции между фибриногеном и индексом атерогенности, фибриногеном и ЛПОНП, фибриногеном и триглицеридами отражают достоверную и достаточно сильную степень зависимости друг от друга указанных показателей. Выявленная в нашей работе статистически значимая корреляция между фибриногеном и показателями артериального давления также находит подтверждение в ряде зарубежных публикаций [7, 14].

Определение повышенного содержания D-димера с высокой степенью чувствительности отражает нарушение баланса гемостатических реакций. D-димеры имеют длительный период жизни (около 6 ч), что позволяет проводить их определение с максимальной степенью точности. На результаты исследования D-димера практически не влияют техника взятия крови и другие преаналитические моменты. Нарастание D-димера доказано у больных с подтвержденным диагнозом острого венозного тромбоза и тромбоэмболии легочной артерии. Повышение уровня D-димера может отмечаться также при целом ряде состояний и заболеваний, например, при диссеминированном внутрисосудистом свертывании, онкопатологии, инфекции, воспалении, болезнях печени. Повышение уровня D-димера показано у лиц старше 80 лет, при этом причины последнего на данный момент не установлены [17, 18].

Полученные в настоящем исследовании данные о высокой частоте встречаемости повышенных значений D-димера при сниженной фракции выброса левого желудочка представляются особенно значимыми для клинической практики. Они полностью совпадают с результатами работы Maggioni et al. [9], в которой содержание D-димеров было достоверно выше у больных IV функционального класса ХСН в сравнении с больными II и III функциональных классов. В указанном исследовании, охватившем 214 пациентов с II–IV функциональными классами ХСН, убедительно доказано, что повышение D-димеров является значимым предиктором смертности при ХСН. D-димеры и другие продукты деградации фибрина нарушают регуляцию синтеза интерлейкина-6, ключевого цитокина в синтезе острофазовых белков, что углубляет воспалительные реакции и способствует прогрессии ХСН. Также ранее в эксперименте было показано, что интерлейкин-6 оказывает отрицательный инотропный эффект [19]. Таким образом, выявление высоких значений D-димеров у жителей блокадного Ленинграда с ХСН может являться основанием для более пристального наблюдения за подобными больными после выписки из стационара, на амбулаторном этапе.

Повышение содержания и активности фактора Виллебранда доказано при васкулитах, у больных с острым инфарктом миокарда и при целом ряде других заболеваний [20].

Наши данные о высокой активности фактора Виллебранда у больных с ХСН свидетельствуют о выраженной альтерации эндотелия у рассматриваемой категории больных. Дисфункция эндотелия может быть следствием целого ряда причин. К наиболее значимым из них относятся нарушения гемодинамики, сопровождающиеся изменением гидростатического давления, скорости и структуры потока, деформацией и окклюзией сосудов; нарушения реологических свойств крови вследствие гемоконцентрации, внутрисосудистой агрегации форменных элементов крови, увеличения вязкости. Существенное значение в развитии эндотелиальной дисфункции имеют также метаболические изменения, воздействие цитокинов, хемокинов и иммунных комплексов [10, 17].

Кроме того, высокая активность фактора Виллебранда имеет большое функциональное значение, так как фактор Виллебранда усиливает адгезию и агрегацию тромбоцитов и коагуляцию, последнее — через стабилизацию фактора VIII.

Отсутствие корреляции между изученными специфическими показателями гемостаза и биохимическими показателями, характеризующими функциональное состояние почек, доказывает, что нарастание активации гемостаза у больных старших возрастных групп не является суррогатным маркером почечной недостаточности.

В заключение хотелось бы подчеркнуть целесообразность проведения проспективного наблюдения за обследованными больными с целью оценки влияния повышенных показателей фактора Виллебранда и D-димера на течение заболевания. В случае если для больных с отмеченными прокоагулянтными изменениями будет характерно ухудшение прогноза течения заболевания с развитием тромботических осложнений (артериальных и/или венозных), как было отмечено в ряде зарубежных исследований [14, 21, 22], возможно в дальнейшем в клинической практике рассматривать совокупность повышения D-димера и активности фактора Виллебранда как показания для включения в проводимую терапию антикоагулянтных препаратов.

Таким образом, у больных с ХСН III–IV функциональных классов, перенесших блокаду Ленинграда, отмечается выраженная активация системы гемостаза. Чувствительными маркерами изменения баланса гемостатических реакций в сторону гиперкоагуляции являются нарастание D-димеров и активности фактора Виллебранда в плазме. У пациентов пожилого и старческого возраста с ХСН скрининговые коагулологические тесты не информативны для оценки состояния гемостаза. При этом максимально выраженные прокоагулянтные изменения выявляются у пациентов старше 80 лет и наиболее высокие показатели D-димера достоверно чаще выявляются у больных со сниженной фракцией выброса левого желудочка.

Литература

1. Rumley A., Emberson J., Wannanethee S. *et al.* Effects of older age on fibrin D-dimer, C-reactive protein, and other hemostatic and inflammatory variables in men aged 60–79 years // *J. of Thromb. and Haemost.* 2006. Vol. 4. P. 982–987.
2. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань, 2000. 367 с.
3. Smith F., Lee A., Hau C. *et al.* Plasma fibrinogen, haemostatic factors and prediction of peripheral arterial disease in the Edinburgh Artery Study // *Blood Coagul. and Fibrinol.* 2000. Vol. 11. P. 43–50.
4. Cook N. S., Ubben D. Fibrinogen as a major risk factor in cardiovascular disease // *Trends Pharmacol. Sci.* 1990. Vol. 11. P. 400–444.
5. Heinrich J., Balleisen L., Schulte H. *et al.* Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk // *Arterioscler. Throm.* 1994. Vol. 14. P. 54–59.

6. Lee A. J., Lowe G. D., Woodward M., Tunstall-Pedoe H. Fibrinogen in relation to personal history of prevalent hypertension, diabetes, stroke, intermittent claudication, coronary heart disease, and family history: the Scottish Heart Health Study // *Br. Heart J.* 1993. Vol. 69. P. 338–342.
7. Folsom A. Hemostatic risk factors for atherothrombotic disease: an epidemiologic View // *Thromb. Haemost.* 2001. Vol. 86. P. 366–373.
8. Zakai N., Katz R., Jenny N. et al. Inflammation and hemostasis biomarkers and cardiovascular risk in the elderly: the Cardiovascular Health Study // *J. of Thromb. and Haemost.* 2007. Vol. 5. P. 1128–1135.
9. Marcucci R., Marcucci R., Gori A. et al. Markers of hypercoagulability and inflammation predict mortality in patients with heart failure // *Ibid.* 2006. Vol. 4. P. 1017–1022.
10. Петрищев Н. Н., Власов Т. Д. Типовые формы дисфункции эндотелия // *Дисфункции эндотелия: Патогенетическое значение и методы коррекции* / Под ред. Н. Н. Петрищева. СПб., 2007. С. 4–48.
11. Giustolisi R., Musso R., Cacciola E. et al. Abnormal plasma levels of factor VIII/von Willebrand factor complex in myocardial infarction — Expression of acute phase reaction or index of vascular endothelium damage? // *Thromb. Haemos.* 1984. Vol. 51. P. 408.
12. Blann A. Von Willebrand factor and the endothelium in vascular disease // *Br. J. Biomed. Sci.* 1993. Vol. 50. P. 125–134.
13. Папаян Л. П. Метод исследования активности фактора Виллебранда // *Лаборат. дело.* 1982. № 5. С. 19–21.
14. Lowe G., Rumley A. Use of fibrinogen and fibrin D-dimer in prediction of arterial thrombotic events // *Thromb. Haemost.* 1999. Vol. 82. P. 667–672.
15. Backer W. F. Thrombosis and hemostasis in cardiology: review of pathophysiology and clinical practice (part I) // *Clin. Appl. Thromb. Haemost.* 1998. Vol. 4. P. 51–75.
16. Jensen R. The new markers of cardiovascular risk // *Clin. Haemost. Rev.* 2000. Vol. 14. P. 1–4.
17. Гемостаз: Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний: Учебн. пособие / Отв ред. Н. Н. Петрищев, Л. П. Папаян. СПб., 1999. 117 с.
18. Папаян Л. П., Князева Е. С. Д-димер в клинической практике: Пособие для врачей. М., 2002. 20 с.
19. Mann D. L. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present and the foreseeable future // *Circulat. Res.* 2002. Vol. 91. P. 988–998.
20. Vischer U., Vischer U. M., Ingerslev J. et al. Acute von Willebrand Factor Secretion from the endothelium in vivo: assesement through plasma propeptide (vWf: AgII) levels // *Thromb. Haemost.* 1997. Vol. 77. P. 387–393.
21. Jansson J., Nilsson T., Jonson O. Von Willebrand factor in plasma: A novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death // *Br. Heart.* 1991. Vol. 66. P. 351–355.
22. Alehagen U., Dalstrom U., Lindal T. et al. Elevated D-dimer level is an independent risk factor of cardiovascular death in out-patients with symptoms compatible with heart failure // *Thromb Haemost.* 2004. Vol. 92. P. 1250–1258.

Статья принята к печати 17 декабря 2008 г.