

© ШИМОХИНА Н.Ю., САВЧЕНКО А.А., ПЕТРОВА М.М., ЛЯШЕНКО А.А.,  
ЧИЖИКОВА И.К., ВОРОНКОВСКАЯ А.В.

УДК 616-005.1-08:616.155.3-06:616.132.2-008.64

## ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

Н.Ю. Шимохина, А.А. Савченко, М.М. Петрова, А.А. Ляшенко,

И.К. Чижикова, А.В. Воронковская

МБУЗ Городская клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н.С. Карповича,  
гл. врач – А.Б. Коган, Красноярск; ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицин-  
ский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ,  
ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов; ФГБУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,  
директор – член.-корр. В.Т. Манчук, Красноярск

***Резюме.** У пациентов с острым коронарным синдромом в динамике заболевания вы-  
явлено повышение свертывающей активности системы гемостаза при одновременном уг-  
нетении антикоагулянтной функции, обнаружен феномен парадоксальной гипоагрегации  
тромбоцитов в ответ на стимуляцию высокими дозами индукторов агрегации. На всех  
этапах обследования больных острым коронарным синдромом установлена высокая хеми-  
люминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов.*

***Ключевые слова:** гемостаз, острый коронарный синдром, хемилюминесценция, нейтрофилы.*

Острый коронарный синдром (ОКС) представляет собой все проявления дестабилиза-  
ции течения ишемической болезни сердца, а именно – нестабильную стенокардию и острый  
инфаркт миокарда (ОИМ). Несмотря на успехи современной медицины, острый коронарный  
синдром является одной из основных причин, определяющих высокую смертность в Россий-  
ской Федерации (РФ) вследствие сердечно-сосудистой патологии. В частности, по данным  
Л.А. Бокерия, в 2008 году в РФ было госпитализировано 252 393 пациента с острым инфарк-  
том миокарда, из которых умерло 16% больных [1].

В настоящее время доказано, что основной причиной развития ОКС является тромбоз  
коронарных артерий, возникающий, как правило, на месте имеющейся нестабильной атеро-  
склеротической бляшки с поврежденной поверхностью. Нестабильную бляшку формирует

субклиническое воспаление, способствующее возникновению и прогрессированию атеросклероза [5,6]. При остром коронарном синдроме происходит повышение реактивности гемостаза и, по мнению ряда исследователей – активация воспалительного процесса в пораженном сосуде [7]. Интенсивность воспалительного процесса во многом определяется состоянием функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов [9,11].

В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение особенностей системы гемостаза и хемилюминесцентной (ХЛ) активности нейтрофильных гранулоцитов у больных острым коронарным синдромом.

### **Материалы и методы**

Обследовано 40 пациентов в первые 48 часов после развития острого коронарного синдрома (средний возраст –  $58,3 \pm 1,5$  лет, 25 мужчин и 15 женщин), без выраженной сопутствующей соматической патологии и сахарного диабета систематически не принимавших до госпитализации антиагреганты и антикоагулянты. Диагноз ОКС, а в дальнейшем нестабильной стенокардии и острого инфаркта миокарда устанавливался согласно рекомендациям ВНОК 2007 года и основывался на результатах клинического обследования, изменениях ЭКГ, лабораторных показателях и данных трансторакальной эхокардиографии. Гипертоническая болезнь III стадии выявлена у 38 (95%) пациентов, инфаркт миокарда в анамнезе имел 21 (52,5%) обследованный, 4 (10%) – постоянную форму фибрилляции предсердий, 5 (12,5%) – пароксизмальную форму мерцательной аритмии. Признаки сердечной недостаточности до развития ОКС выявлены у 28 (70%) человек. Окончательный диагноз острого инфаркта миокарда установлен у 23 (57,5%) человек, при этом инфаркт миокарда с зубцом Q диагностирован у 10 (43,5%) пациентов, нестабильная стенокардия верифицирована у 17 (42,5%) обследованных. Исследование системы гемостаза и ХЛ нейтрофильных гранулоцитов крови проводилось в первые 24 часа после госпитализации пациентов в палату интенсивной терапии и через 10-14 суток. В качестве контроля обследованы 30 относительно здоровых добровольцев без сердечно-сосудистых заболеваний, сопоставимых по полу и возрасту (средний возраст  $56,4 \pm 1,4$  года, 20 мужчин и 10 женщин). Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых. (Протокол заседания локального этического комитета ГБОУ ВПО КрасГМУ №35/2011 от 31.10.2011 г.).

Исследовались следующие показатели плазменного гемостаза: содержание фибриногена, международное нормализованное отношение (МНО), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), антитромбина III (АТ III) на анализаторе «STA-COMPACT» (Швейцария). Изучались показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза: агрегация тромбоцитов, спонтанная

и индуцированная, с применением в качестве индукторов аденозиндифосфата (АДФ) в дозах 0,1 мкМ и 5 мкМ и адреналина в дозе 10 мкг/мл на агрегометре «LA230-2 БИОЛА» (Россия) [2].

Исследование спонтанной и зимозан-индуцированной ХЛ гранулоцитов осуществляли по методу P. De Sole et al. с помощью хемиллюминесцентного анализатора «CL3606M» (Красноярск, Россия) [4]. Результаты хемиллюминесцентного анализа характеризовали по следующим параметрам: время выхода на максимум ( $T_{max}$ ), максимальное значение интенсивности ХЛ ( $I_{max}$ ) и площадь ( $S$ ) под хемиллюминесцентной кривой. Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, оценивали соотношением площади индуцированной ( $S_{инд.}$ ) к площади спонтанной ( $S_{спонт.}$ ) и определяли как индекс активации.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей ( $C_{25}$  и  $C_{75}$ ). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни, для проверки гипотезы о различии зависимых выборок применяли  $U$  критерий Вилкоксона. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США, 2004).

### **Результаты и обсуждение**

При исследовании коагуляционного звена гемостаза у больных ОКС в 1-е сутки госпитализации обнаружена гиперфибриногенемия, сохраняющаяся к выписке на 10-14-е сутки заболевания (табл. 1). На протяжении всего наблюдения обращает внимание низкий антикоагулянтный потенциал крови обследованных, а именно, уровень основного физиологического антикоагулянта – антитромбина III снижен относительно контроля на всех этапах исследования, хотя к выписке пациентов его уровень достоверно повышается в сравнении с показателями первых суток. Кроме того, на всех этапах наблюдения отмечается достоверно высокий уровень РФМК, что указывает на тромбинемию и активацию внутрисосудистого свертывания.

При оценке сосудисто-тромбоцитарного гемостаза следует учесть, что до поступления в стационар ни один из обследованных не принимал регулярно антиагреганты, тогда как во время лечения 38 (95%) человек получали ацетилсалициловую кислоту (АСК) в дозе 125 мг/сутки, а в комбинации с клопидогрелем в дозе 75 мг/сутки – 27 (67,5%) пациентов. В связи с чем, вполне объяснимы достоверно высокие уровни спонтанной агрегации тромбоцитов (САТ) и агрегации тромбоцитов (АТ), индуцированной АДФ в дозе 0,1 мкМ, в 1-е сутки госпитализации пациентов. В то же время, в 1-е сутки у обследованных отмечается достоверное

снижение относительно контроля показателей АТ индуцированной АДФ в дозе 5 мкМ и адреналином, что может свидетельствовать о дисфункции тромбоцитов, заключающейся в гипосенситивности рецепторов клеток к сильным агонистам агрегации (табл. 1).

К выписке пациентов, на 10-14-е сутки, отмечается достоверное снижение уровней САТ и АТ индуцированной АДФ в дозе 0,1 мкМ в сравнении с показателями первых суток, уровни АТ индуцированной АДФ в дозе 5 мкМ и адреналином остаются достоверно ниже показателей контроля, что свидетельствует об удовлетворительном эффекте антиагрегантной терапии (табл. 1).

Показатели ХЛ активности нейтрофильных гранулоцитов у больных ОКС представлены в таблице 2. Обнаружено, что в 1-е сутки госпитализации у больных ОКС, по сравнению с контрольными показателями, повышена максимальная интенсивность и площадь под кривой спонтанной и индуцированной ХЛ нейтрофильных гранулоцитов. Кроме того, при ОКС в 1-е сутки понижается время выхода на максимум зимозан-индуцированной ХЛ. Изменение максимума интенсивности и площади под кривой спонтанной и индуцированной ХЛ характеризует повышенный уровень синтеза активных форм кислорода отражает активацию нейтрофильных гранулоцитов [3,8,10]. Время выхода на максимум характеризует время, необходимое для активации клеток. В этот процесс вовлекаются события, начинающиеся с восприятия клеткой регуляторных и/или активационных сигналов (на мембране), передача этих сигналов внутрь клетки и формирование функционального ответа нейтрофильных гранулоцитов, выражающееся в «дыхательном взрыве». Вероятно, у больных ОКС в крови повышается количество нейтрофильных гранулоцитов, быстро реагирующих на дополнительное активационное воздействие.

На 10-14-е сутки максимум интенсивности и площадь под кривой спонтанной и зимозан-индуцированной ХЛ нейтрофилов остается повышенной относительно показателей контрольной группы (табл. 2). Также снижено время выхода на максимум индуцированной ХЛ. Однако в этот период обследования у больных ОКС наблюдается статистически достоверное снижение максимума спонтанной ХЛ по сравнению с выявленным на 1-е сутки госпитализации, что характеризует относительное снижение интенсивности «дыхательного взрыва» клетками в состоянии покоя. При этом у больных ОКС увеличивается величина индекса активации, что позволяет констатировать повышенную способность нейтрофильных гранулоцитов реагировать на активационные сигналы.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют заключить, что у больных в динамике острого коронарного синдрома сохраняется высокий прокоагулянтный потенциал свертывающей системы крови одновременно с угнетением антикоагулянтной функции гемостаза. Кроме того, у больных острым коронарным синдромом в 1-е сутки заболевания обна-

ружен феномен парадоксальной гипоагрегации тромбоцитов в ответ на стимуляцию сильными индукторами агрегации, можно предположить, что это вызвано функциональным истощением активированных тромбоцитов. На фоне лечения антиагрегантами у больных острым коронарным синдромом наблюдается удовлетворительный терапевтический эффект. На всем протяжении обследования хемилуминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных ОКС остается высокой, характеризуя интенсивность воспалительных процессов. При этом формируется пул быстро реагирующих на воздействие клеток. К 10-14-му дню лечения появляется тенденция к понижению хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов.

Полученные в нашей работе результаты, позволяют заключить, что развитие у пациентов острого коронарного синдрома сопровождается дисбалансом в системе гемостаза и высокой активностью факторов неспецифического воспаления, играющих ключевую роль в механизмах дестабилизации и прогрессирования атеросклероза.

*Работа выполнена при поддержке гранта ККФН «Конкурс индивидуальных проектов молодых ученых» №15/12.*

## **THE FEATURES OF HEMOSTATIC SYSTEM AND CHEMILUMINESCENT ACTIVITY OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME**

N.Yu. Shimohina, A.A. Savchenko, M.M. Petrova, A.A. Lyashenko,

I.K. Chizhikova, A.V. Voronkovskaya

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky

**Abstract.** In patients with acute coronary syndrome in dynamics of disease was found the increasing coagulating activity of the hemostatic system with simultaneous inhibition of anticoagulant function, was discovered the phenomenon of paradoxical hypoaggregation of platelets in response to stimulation by high doses of inducers of aggregation. At all stages of examination of patients with acute coronary syndrome it was revealed high chemiluminescent activity of neutrophil granulocytes.

**Key words:** hemostasis, acute coronary syndrome, chemiluminescence, neutrophils.

### **Литература**

1. Бокерия Л.А., Ступаков И.Н., Самородская И.В. и др. Инфаркт миокарда: насколько отражает проблему официальная статистика? // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2008. – Т. 7, №8. – С. 75-79.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза, 3-е изд. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 296 с.
3. Коленчукова О.А., Савченко А.А., Смирнова С.В. Особенности люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных хроническим риносинуситом // Мед. иммунология. – 2010. – Т. 12, №4-5. – С. 437-440.
4. De Sole P., Frigieri L., Fresu R. et al. Chemiluminescence of bronchoalveolar macrophages: effect of adherence to plastic cuvette // Arch. Immunol. Ther. Exp. – 1992. – Vol. 40, №1. – P. 55-58.
5. Al-Rasadi K., Al-Zakwani I., Zubaid M. et al. Prevalence, Predictors, and Impact of Low High-Density Lipoprotein Cholesterol on in-Hospital Outcomes Among Acute Coronary Syndrome Patients in the Middle East // Open Cardiovasc. Med. J. – 2011. – Vol. 5. – P. 203-209.
6. Alagona P. Jr. Beyond LDL cholesterol: the role of elevated triglycerides and low HDL cholesterol in residual CVD risk remaining after statin therapy // Am. J. Manag. Care. – 2009. – Vol. 15, №3. – P. S65-S73.
7. Abu el-Makrem M.A., Mahmoud Y.Z., Sayed D. et al. The role of platelets CD40 ligand (CD154) in acute coronary syndromes // Thromb. Res. – 2009. – Vol. 124, №6. – P. 683-688.
8. Kjelgaard-Hansen M., Wiinberg B., Aalbaek B. et al. Endotoxin activity in whole blood measured by neutrophil chemiluminescence is applicable to canine whole blood // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 31, №6. – P. 477-485.
9. Phillipson M., Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation // Nat. Med. – 2011. – Vol. 17, №11. – P. 1381-1390.
10. Seth R., Ribeiro M., Romaschin A. et al. Occupational endotoxin exposure and a novel luminol-enhanced chemiluminescence assay of nasal lavage neutrophil activation // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011. – Vol. 127, №1. – P. 272-275.
11. Wright H.L., Moots R.J., Bucknall R.C., Edwards S.W. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases // Rheumatology (Oxford). – 2010. – Vol. 49, №9. – P. 1618-1631.

#### **Сведения об авторах**

Шимохина Наталья Юрьевна – к.м.н., врач-кардиолог кардиологического отделения для лечения больных острым инфарктом миокарда МБУЗ Городская клиническая

больница № 6 им. Н.С. Карповича, Красноярск, докторант кафедры поликлинической терапии, семейной медицины и ЗОЖ с курсом ПО КрасГМУ; e-mail: [doctorkardiolog99@rambler.ru](mailto:doctorkardiolog99@rambler.ru).

Савченко Андрей Анатольевич – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, зав. каф. физиологии им. проф. А.Т. Пшоники КрасГМУ; e-mail: [aasavchenko@yandex.ru](mailto:aasavchenko@yandex.ru).

Петрова Марина Михайловна – д.м.н., проф., зав. кафедрой поликлинической терапии, семейной медицины и ЗОЖ с курсом ПО КрасГМУ; e-mail: [stk99@yandex.ru](mailto:stk99@yandex.ru).

Ляшенко Александра Алексеевна – аспирант кафедры поликлинической терапии, семейной медицины и ЗОЖ с курсом ПО КрасГМУ; e-mail: [kass\\_doc@mail.ru](mailto:kass_doc@mail.ru).

Чижикова Инна Константиновна – заведующая клинко-диагностической лабораторией МБУЗ Городская клиническая больница № 6 им. Н.С. Карповича, Красноярск; e-mail: [doctorkardiolog99@rambler.ru](mailto:doctorkardiolog99@rambler.ru).

Воронковская Анна Владимировна – врач клинко-диагностической лаборатории МБУЗ Городская клиническая больница № 6 им. Н.С. Карповича, Красноярск; e-mail: [avoronkovskaya@gmail.com](mailto:avoronkovskaya@gmail.com).

Таблица 1

**Показатели гемостаза у больных ОКС (Me; C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>)**

Показатели	Контроль (n=30) 1		1-е сутки (n=40) 2		10-14-е сутки (n=40) 3	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
<b>Коагуляционный гемостаз</b>						
Фибриноген, г/л	2,78	2,46-3,25	3,8	2,91-5,04	3,9	3,2-4,8
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
РФМК, мг %	8,5	6,5-10,0	13,5	10,0-20,0	12,0	10,0-22,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
Антитромбин III, %	97,5	91,0-103,0	90,5	80,0-98,0	91,5	84,0-102,0
			p <sub>1</sub> <0,05		P <sub>1,2</sub> <0,001	
МНО	0,99	0,93-1,03	1,0	0,96-1,04	1,0	0,98-1,02
АЧТВ, сек	33,8	32,6-35,9	35,5	32,7-38,3	34,95	33,1-36,6
<b>Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз</b>						
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	204,0	187,0-242,0	218,5	165,5-268,0	227,0	190,0-266,5
САТ, усл. ед.	1,29	1,1-1,74	1,69	1,43-2,14	1,43	1,22-1,94
			p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>2</sub> <0,05	
АТ с АДФ 5 мкМ, %	39,2	28,5-49,5	15,95	10,85-33,75	16,3	10,2-22,8
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	

АТ с АДФ 0,1 мкМ, усл. ед.	1,78	1,4-2,26	2,25	1,61-2,80	1,76	1,54-2,42
			p <sub>1</sub> <0,05		p <sub>2</sub> <0,05	
АТ с адреналином 10 мкг/мл, %	39,5	28,5-48,2	11,4	6,63-24,80	11,5	6,46-15,00
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	

*Примечание: p<sub>1</sub> – достоверное различие с контрольными показателями;*

*p<sub>2</sub> – достоверное различие с показателями пациентов в 1-е сутки.*

**Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных ОКС  
(Me; C<sub>25</sub>-C<sub>75</sub>)**

Показатели	Контроль (n=30) 1		1-е сутки (n=40) 2		10-14-е сутки (n=40) 3	
	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>	Me	C <sub>25</sub> -C <sub>75</sub>
<b>Спонтанная хемилюминесценция</b>						
T <sub>max</sub> , сек.	1371,0	602,0 – 1894,0	932,0	653,5 – 1451,0	1316,0	899,0 – 1604,0
I <sub>max</sub> , о.е. ×10 <sup>3</sup>	11,59	3,63 – 25,90	50,04	28,90 – 64,52	35,29	17,22 – 49,28
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>2</sub> <0,05	
S, о.е.×сек.×10 <sup>6</sup>	0,48	0,16 – 1,00	5,64	2,68 – 8,56	3,31	1,60 – 6,45
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
<b>Зимозан-индуцированная хемилюминесценция</b>						
T <sub>max</sub> , сек.	1248,0	1056,0 – 1574,0	784,0	625,0 – 1131,5	894,0	701,0 – 1157,0
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,01	
I <sub>max</sub> , о.е. ×10 <sup>3</sup>	22,60	11,01 – 36,23	93,66	68,51 – 119,47	88,79	63,93 – 109,35
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
S, о.е.×сек.×10 <sup>6</sup>	0,78	0,48 – 1,47	10,80	5,51 – 19,55	6,64	4,92 – 11,90
			p <sub>1</sub> <0,001		p <sub>1</sub> <0,001	
Синд./Спонт.	1,82	1,44 – 2,41	2,18	1,67 – 2,91	2,39	1,86 – 3,17
					p <sub>1</sub> <0,05	

*Примечание: p<sub>1</sub> – достоверное различие с контрольными показателями;*

*p<sub>2</sub> – достоверное различие с показателями пациентов в 1-е сутки.*