# Тромбоз Гемостаз Реология

## НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

*Выпускается один раз в квартал*
*Основан в 2000 г.*

*Quaterly*
*Since 2000*

№ 2

Июль 2006 г.

Научное общество **«Клиническая гемостазиология»**
Научное общество **«Клиническая гемореология»**






**Учредитель:** Е.В.Ройтман
**Издатель:** ООО «Гемостаз и реология» лиц. ИД № 05534
Журнал зарегистрирован Министерством печати и информации РФ
Свидетельство о регистрации ПИ №779636
Тираж 1500 экз.

Цена свободная
Подписной индекс Роспечать «Журналы России»
для организаций — 18363
для индивидуальных подписчиков — 18362

**Информационная поддержка**: Интернет-сайт «Гемостаз и реология» *www.hemostas.ru*



**Контактный адрес:** *Е.В.Ройтман* — РНЦХ РАМН, Россия, 119992, Москва, Абрикосовский пер. 2;
Тел./факс: (495)248-0662, 8 903 144-4634, e-mail: **hemostas@aha.ru**

## СОДЕРЖАНИЕ



## CONTENTS

## ПЕРЕДОВАЯ

# АКУСТИЧЕСКИ ДЕТЕКТИРУЕМЫЕ ВНУТРИСОСУДИСТЫЕ МИКРОАГРЕГАЦИОННЫЕ ЯВЛЕНИЯ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ В ТКАНИ. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ. СООТНОШЕНИЯ ПОДОБИЯ.

*К. Е. Злобина, Г. Т. Гурия*
*Гематологический Научный Центр РАМН, Москва*

# ULTRACONICALLY DETECTED INTRAVASCULAR MICRO-AGGREGATION CAUSED BY PATHOLOGICAL PROCESSES IN TISSUES. MATHEMATICAL MODEL. SIMILARITY LAW.

*K.E. Zlobina, G.T. Guria*
*Hematological Research Center RAMS, Moscow*

Theoretical analysis of intravascular micro-aggregation ultrasonically detected as a “smoke” allowed to establish that this phenomena may occur as a consequence of the development of pathological processes in adjacent tissues. As a result of the mathematical model investigation a quantitative relation between characteristic dimension of tissue injury (R) and micro-thrombi cloud downstream drift from the place of tissue injury (L) was found. Similarity laws for early and late stages of tissue pathological process development were found. The mathematical scale-invariant expressions received give a possibility to get information about the dynamic of tissue pathological processes on the basis of experimental data concerning spatio-temporal about intravascular blood coagulation.

**Keywords:** *microthrombi — acoustic detection — spontaneous echo-contrast — similitude relationship.*

## ВВЕДЕНИЕ

Тромбообразование в интенсивных потоках *in vivo* часто носит существенно делокализованный по пространству характер, не имея отчетливо выраженного очага [1, 2]. При этом самые ранние стадии активации внутрисосудистого свертывания в ряде случаев детектируются ультразвуковыми методами по появлению в кровотоке своеобразной «дымки» (спонтанного эхо-контраста) [3, 4, 5, 6, 7]. По существующим представлениям возникновение эхо-контраста обуславливается появлением в потоке микротромбов. Множественное микротромбообразование в интенсивных потоках детектируется визуально и оптическими методами, проявляясь в виде своеобразной «метели» [8,9]. Вслед за появлением микроагрегатов развитие процессов тромбообразования идет за счет их соединения в более крупные сгустки — эмболы. В конечном итоге в системе образуется сплошная фибриновая сеть. Экспериментальное и теоретическое изучение ранних микроэмболических процессов представляет большой научный интерес [3, 4, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Известно, что развитие ряда патологических воспалительных и/или опухолевых процессов в тканях, пронизываемых кровеносными сосудами, вызывает активацию внутрисосудистого свертывания крови [15, 17, 18, 19, 20, 21]. Характер влияния тканевых процессов на внутрисосудистые определяется следующими факторами:

1. *природой проникающих* из патологического очага в сосуд *агентов*, в качестве которых могут выступать медиаторы воспаления, продукты жизнедеятельности и деградации патологических микроорганизмов, а также другие молекулярные вещества, возникающие в результате развития патологических, в том числе некротических, процессов в ткани;
2. *пространственным характером оказываемого воздействия*. В одних случаях речь идет о местном, то есть пространственно локализованном воздействии, например, когда в определенной, прилегающей к патологическому очагу области изменяются свойства сосудистой стенки; в других случаях воздействующий

агент вызывает объемные изменения состава крови;

3. *механизмом доставки проникающего агента* в сосуд. В одних случаях имеет место пассивная диффузия, в других — хемотаксис, а в-третьих — сопряженный активный транспорт;
4. свойственными воздействиям *временными характеристиками*, то есть тем, носят ли воздействия непродолжительный — импульсный характер или же могут с большой долей уверенности рассматриваться как постоянные — неизменные во времени.

Как известно, в силу порогового характера активации системы свертывания крови, оказываемое на внутрисосудистые процессы извне влияние способно провоцировать смену агрегатного состояния крови лишь при запороговых воздействиях [8]. Величина указанного порога активации системы свертывания крови зависит как от кинетических характеристик системы регуляции свертывания крови, так и от гидродинамических параметров течения.

Известно, что развитие патологических процессов в тканях может при известных условиях оказывать непосредственное воздействие на пороговый запуск процессов внутрисосудистого свертывания [16, 18, 19, 20, 21]. При этом наблюдаемые в сосуде агрегационные явления могут развиваться по нескольким различным сценариям [17, 22, 23, 24]. Более подробное изучение взаимосвязи между патологическими тканевыми процессами и внутрисосудистым свертыванием могло бы оказать содействие при интерпретации многих медицинских (клинических) явлений.

В данной работе предпринята попытка теоретического изучения процессов множественного внутрисосудистого микротромбообразования, активирующихся вследствие развития патологических явлений в окружающей рассматриваемый сосуд ткани. В силу причинно-следственной обусловленности, место появления микросгустков в кровотоке и их пространственно-временное распределение существенным образом определяется перечисленными выше факторами, с учетом которых в рамках единого физико-математического описания удалось разработать достаточно общую замкнутую математическую модель рассматриваемых процессов.

Анализ модели позволил выявить универсальное *соотношение подобия* между пространственными характеристиками внутрисосудистых процессов первичного тромбообразования с одной стороны, и размером тканевого патологического очага с другой. Полученное соотношение подобия, в частности, позволяет в ряде случаев судить о недоступных непосредственному наблюдению изменениях в динамике тканевого повреждения, опираясь на экспериментальные данные о развитии процессов внутрисосудистого тромбообразования, в частности, полученные с помощью УЗИ.

Можно предположить, что найденные нами закономерности позволят пролить дополнительный свет на интенсивно изучаемую последнее время взаимосвязь между воспалительными процессами и гемостазиологическими нарушениями.

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Активация внутрисосудистых процессов свертывания крови описывалась посредством уравнений массопереноса сопряженных с уравнениями, описывающими кинетику активации ключевых факторов системы свертывания крови [25, 26]. При этом первичная инициация процессов внутрисосудистого свертывания полагалась происходящей в результате контактной активации в местах повреждения сосудистой стенки [8, 27].

Принималось во внимание, что развитие практически любого патологического процесса в ткани сопровождается инфильтрацией в кровоток вторичных (в том числе атипичных) продуктов тканевого метаболизма. Интенсивность этого процесса, с одной стороны, определяется скоростью образования такого рода продуктов в каждом из элементов ткани, ее размером и, не в последнюю очередь, проницаемостью сосудистой стенки.

В данной работе мы исходили из того, что проницаемость сосудистой стенки в той или иной части сосуда может существенно изменяться в результате процессов, протекающих в прилегающей к сосуду ткани (в частности, локальных воспалительных, или же опухолевых патологических процессов). Математически указанное обстоятельство отображалось постановкой соответствующих граничных условий на участках сосудистой стенки, находящихся в непосредственной близости от очаговой области, в которой развивается патологический процесс [26, 28, 29]. В частности, в тех участках стенки, которые непосредственно прилегают к патологическому тканевому очагу (воспалению), их проницаемость полагалась превышающей нор-

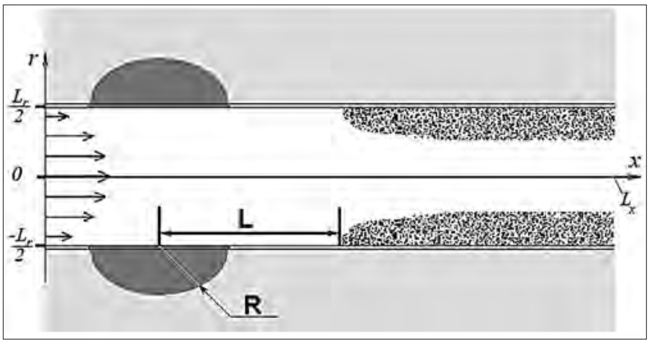



**Рис. 1.** Продольный разрез ткани, содержащей сосуд. Стрелками схематически показан параболический профиль скоростей движущейся крови. Очаг патологического тканевого повреждения вокруг сосуда обозначен темно-серым. Выделенная темным прилегающая к очагу сосудистая стенка полагается проницаемой для веществ, вызывающих пристеночную активацию процессов свертывания крови. Крапчатые области в правой части рисунка отображают схематически местоположения облака микротромбов.

мальную. Изучаемая нами система схематически представлена на **рисунке 1**.

Система уравнений в соответствии с [30] имеет вид:

$$\frac{\partial\theta}{\partial t}=\frac{\alpha\theta^2}{\theta+\theta_0}-\kappa_1\theta-\gamma\theta\varphi+\vec{\nabla}\left(D\cdot\vec{\nabla}\theta-\vec{V}\theta\right) \quad (1)$$

$$\frac{\partial F_g}{\partial t}=-k_g\theta\cdot F_g+\vec{\nabla}\left(D\cdot\vec{\nabla}F_g-\vec{V}F_g\right) \quad (2)$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial t}=k_g\theta\cdot F_g-A_1+\vec{\nabla}\left(D\cdot\vec{\nabla}F_1-\vec{V}F_1\right) \quad (3)$$

$$\frac{\partial F_{2s}}{\partial t}=B_s-A_{2s}+\vec{\nabla}\left(D\cdot\vec{\nabla}F_{2s}-\vec{V}F_{2s}\right) \quad (4)$$

$$\frac{\partial F_{2s+1}}{\partial t}=C_s-A_{2s+1}+\vec{\nabla}\left(D\cdot\vec{\nabla}F_{2s+1}-\vec{V}F_{2s+1}\right) \quad (5)$$

$$\frac{\partial\varphi}{\partial t}=\beta\theta\left(1-\frac{\varphi}{c}\right)\left(1+\left(\frac{\varphi}{\varphi_0}\right)^2\right)-\kappa_2\varphi+\vec{\nabla}\left(D\cdot\vec{\nabla}\varphi-\vec{V}\varphi\right) \quad (6)$$

где $s = 1, 2, 3\ldots$, $\theta$ — концентрация активатора (тромбина); $\varphi$ — концентрация ингибитора; $F_g$ — концентрация фибриногена; $F_i$ — концентрация фибрина-полимера состоящего из $i$ фибрин-мономеров; $A_s=k_pF_s\sum_{i=1}^{\infty}F_i$ ; $B_s=k_p\sum_{i=1}^{s}F_iF_{2s-i}$ ; $C_s=k_p\sum_{i=1}^{s}F_iF_{2s+1-i}$ ; $D$ — коэф-т диффузии; $t$ — время; $\vec{V}=(V_r,V_x)$ — поле скоростей крови в сосуде, причем $V_x$ — продольная компонента скорости, а $V_r$ — радиальная компонента скорости, $\vec{\nabla}$ — оператор Гамильтона. Значения кинетических констант скоростей реакции и других параметров задачи, использованных при расчетах, приведены в **таблице 1**.

*Таблица 1.*

**Значения кинетических констант скоростей реакций и других параметров задачи, использованных при расчетах**

| Величина | Значение | Величина | Значение |
|---|---|---|---|
| $\alpha$ | 2 мин$^{-1}$ | $\mu$ | 2,4×10$^{-2}$ см мин$^{-1}$ |
| $\theta_0$ | 1 нМ | $\gamma$ | 5 мин$^{-1}$нМ$^{-1}$ |
| $\kappa_1$ | 0,05 мин$^{-1}$ | $\varphi_0$ | 0,05 нМ |
| $D$ | 6×10$^{-4}$ см$^2$мин$^{-1}$ | $\kappa_2$ | 0,35 мин$^{-1}$ |
| $k_g$ | 3×10$^{-4}$ мин$^{-1}$нМ$^{-1}$ | $\beta$ | 1,5×10$^{-3}$ мин$^{-1}$ |
| $F_0$ | 9×10$^6$ нМ | $c$ | 5 нМ |
| $k_p$ | 1,5×10$^{-2}$ мин$^{-1}$нМ$^{-1}$ | $\theta_{ext}$ | 100 нМ |
| $L_r$ | 3 см | $L_x$ | 15 см |

Легко видеть, что представленные выше уравнения описывают реакции каталитической трансформации фибриногена в фибрин-мономер под действием тромбина. При этом учитывалось, что полимеризация фибрина носит поэтапный характер: из фибрин-мономера образуется димер, из мономера и димера — тример, тример и мономер дают тетрамер и т.д. Поле скоростей в рассматриваемом сосуде полагалось пуазейлевским, направленным слева направо (**рис. 1**):

$$V_x=V_0\left(1-\left(\frac{2r}{L_r}\right)^2\right) \quad (7)$$

где $r$ — расстояние от оси сосуда; $L_r$ — диаметр сосуда.

На левой границе рассматриваемой области граничные условия имели вид:

$$\theta\big|_{x=0}=\varphi\big|_{x=0}=F_i\big|_{x=0}=0 \quad (8)$$

$$F_g\big|_{x=0}=F_0 \quad (9)$$

На правой границе рассматриваемой области (**рис. 1**) для всех реагентов системы ставились свободные граничные условия:

$$\left.\frac{\partial^2\theta}{\partial x^2}\right|_{x=L_x}=\left.\frac{\partial^2F_g}{\partial x^2}\right|_{x=L_x}=\left.\frac{\partial^2F_i}{\partial x^2}\right|_{x=L_x}=\left.\frac{\partial^2\varphi}{\partial x^2}\right|_{x=L_x}=0,\ i=1,\ldots15 \quad (10)$$

где $L_x$ — длина сосуда.

Граничные условия на стенках сосуда имели вид:

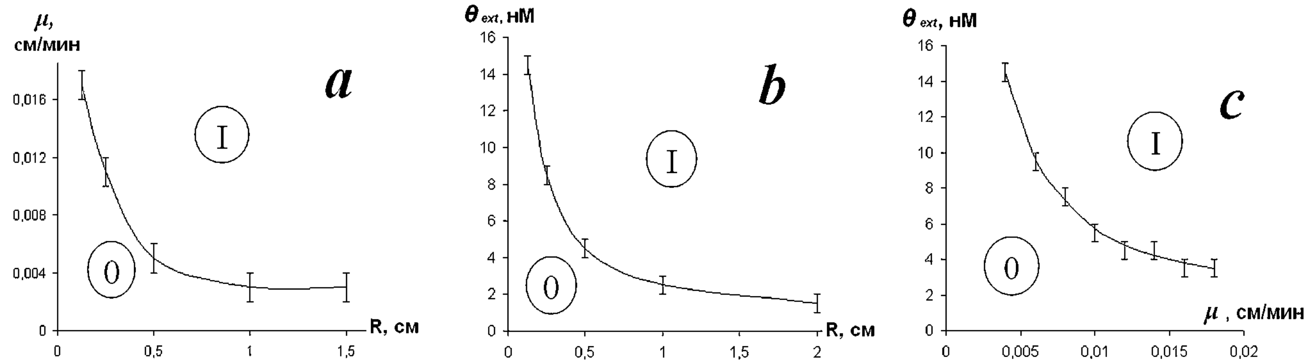



**Рис. 2.** Параметрические диаграммы состояний системы свертывания крови в сосуде.
Областям, отмеченным символом «0» соответствуют состояния, при которых в сосуде система свертывания крови не активируется. Областям «I» — состояния, в которых имеет место пороговая активация внутрисосудистого тромбообразования. Диаграмма на **рис. 2a** построена для значения $\Theta_{ext}$ = 10 нМ, диаграмма на **рис. 2b** — для μ=0,012 см/мин, диаграмма на **рис. 2c** — для R=0,5 см.

$$\left.\frac{\partial F_i}{\partial r}\right|_{r=\pm L_r/2} = \left.\frac{\partial \varphi}{\partial r}\right|_{r=\pm L_r/2} = 0\,,\ i = g,\ 1,\ 2\ ..\ 15, \tag{11}$$

$$\left.\frac{\partial \theta}{\partial r}\right|_{r=\pm L_r/2} = 0 \qquad x \in [0; X_0 - R) \cup (X_0 + R;\ L_x] \tag{12}$$

$$D\left.\frac{\partial \theta}{\partial r}\right|_{r=\pm L_r/2} = \mu\left(\left.\theta\right|_{r=\pm L_r/2} - \theta_{ext}\right)\ x \in [X_0 - R; X_0 + R] \tag{13}$$

Последнее выражение отображает условие контактной активации тромбина в окрестности места тканевого повреждения. В качестве $X_0$ фигурирует координата центра поврежденного участка сосудистой стенки, а в качестве $R$ — характерная полуширина этой области, в простейшем случае полагающаяся равной радиусу тканевого патологического очага. Величины $\mu$ и $\theta_{ext}$ эффективно отображают интенсивность контактной активации на стенке, прилегающей к патологическому очагу. Их значения определяются природой проникающих из ткани в сосуд агентов и проницаемостью сосудистой стенки.

В дополнение к представленным выше уравнениям модели при расчетах принимались во внимание сообразные рассматриваемой нами ситуации начальные условия:

$$\left.\theta\right|_{t=0} = \left.\varphi\right|_{t=0} = \left.F_i\right|_{t=0} = 0 \tag{14}$$

$$\left.F_g\right|_{t=0} = F_0 \tag{15}$$

Система уравнений (1)–(15) после обезразмеривания решалась численно (см. приложение).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты выполненных на основании построенной модели расчетов представлены в графическом виде на **рисунках 2a**, **2b** и **2c**.

Представленные данные (**рис. 2a** и **2b**) наглядно показывают, что в широкой области значений параметров $\mu$ и $\theta ext$ при превышении областью повреждения определенного критического размера $R_{cr}$ в рассматриваемой системе должны инициироваться процессы внутрисосудистого тромбообразования. Из **рисунка 2** видно, что процессы внутрисосудистого тромбообразования могут быть активированы и при фиксированном R за счет изменения других параметров, таких как $\theta_{ext}$ и $\mu$.

Из **рисунка 2c** также видно, что переход из области без свертывания «0» в область с образованием микротромбов «I» может происходить и за счет увеличения параметров, характеризующих активацию свертывания в области сосуда, прилегающей к очагу тканевого поражения: $\theta_{ext}$ или $\mu$. При $\mu$=0,012 см/мин и $R$=1 см, при увеличении параметра $\theta_{ext}$ сверх своего критического значения $\theta_{ext}^{cr}$ = 2,5 нМ, в системе должен иметь место переход к внутрисосудистому тромбообразованию.

В рамках рассматриваемой модели изучался вопрос, в какой мере длина сдвига облака микротромбов — $L$ относительно центра тканевого повреждения (**рис. 1**) зависит от характерного размера тканевого повреждения — $R$?

Проведенный анализ математической модели (1)–(15) показал, что при закритических значениях параметров во внутрисосудистом русле должно иметь место стационарное, но пространственно неоднородное распределение по пространству как факторов системы свертывания (и соответствующих противосвертывающих факторов), так и молекул фибрин-мономеров и образующихся в результате его полимеризации фибрин-димеров, -тримеров, -олигомеров и т.д.

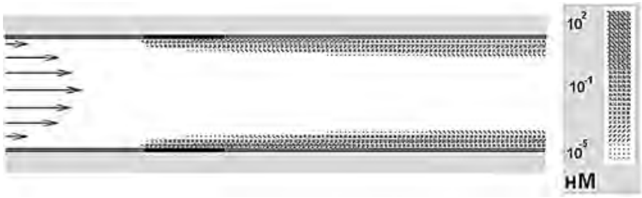



**Рис. 3.** Распределение тромбина в сосуде. Поток крови направлен слева направо. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации. Темный участок стенки — место соприкосновения с местом тканевого повреждения (R=1 см, $V_0$=10 см/мин).

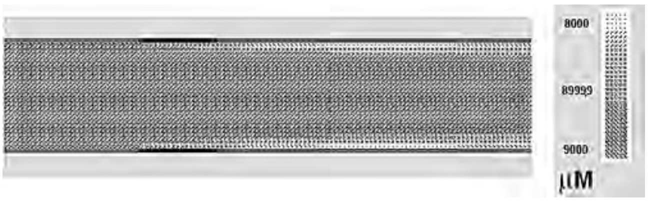



**Рис. 4.** Распределение фибриногена в сосуде.

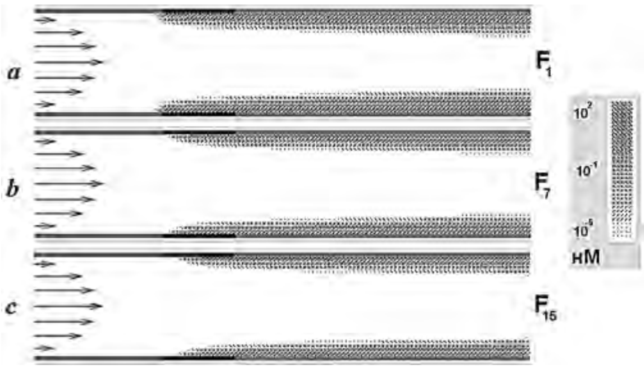



**Рис. 5.** Характерные распределения концентраций фибрина в сосуде. **(a)** — фибрин-мономер ($F_1$); **(b)** — олигомеры, состоящие из 7 мономерных звеньев ($F_7$); **(c)** — 15-звеньевые олигомеры ($F_{15}$).

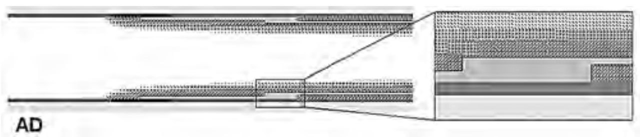



**Рис. 6.** Распределение акустической плотности микроагрегатов. Крапчатым обозначены акустически частично проницаемые области. Серая область — зона с наиболее высокой акустической плотностью.

Представленные на **рисунках 3–5** характерные результаты дают представление о распределении ингредиентов системы свертывания и первичных продуктов полимеризации фибрина в кровотоке. Удалось установить, что чем больше была скорость движения крови — $V_0$, тем более пологими становились распределения метаболитов в пристеночной области, а чем больше была интенсивность контактной пристеночной активации — более крутыми.

Имея в виду проблемы экспериментальной, в частности, ультразвуковой детекции микроагрегатных распределений, нами были рассчитаны поля акустической плотности (AD) в соответствии с формулой:

$$AD(x,r,t) = \sum_{i=1}^{N} i \cdot F_i$$

где $N$ — максимальная рассчитываемая в модели длина фибрин-полимера; $F_i$ — концентрация фибрин-олигомера, состоящего из $i$ молекул фибрина. Характерное распределение акустической плотности показано на **рисунке 6**, где серая зона соответствует областям с наиболее высокой акустической плотностью. Отчетливо видно, что развивающиеся в сосуде процессы свертывания крови при достаточной степени их выраженности должны сопровождаться появлением в рассматриваемой системе спонтанного акустического контраста. Последний внешне должен проявляться в виде своеобразной дымки, распространяющейся вниз по потоку от места контактной активации свертывания. Было установлено, что усиление контактной активации (так же, как и увеличение площади активации) имеет своим следствием увеличение размера «дымки» в кровотоке, приближение акустически непрозрачной области к зоне контактной активации, проявляющееся в уменьшении характерного размера $L$ (**рис. 7**).

Увеличение скорости внутрисосудистого кровотока приводило к сносу «дымки» вниз по потоку. Характерная зависимость представлена на **рисунке 8**. На **рисунке 9** показана зависимость длины сноса $L$ от радиуса повреждения $R$. Каждая кривая соответствует серии опытов с одной и той же скоростью потока крови в сосуде. Видно, что медленные скорости течения и большие размеры тканевого повреждения соответствуют меньшим значениям $L$, то есть расположению облака выше по течению. На **рисунке 10** показаны кривые $L(R)$, рассчитанные при разных значениях $\theta_{ext}$. Как видно, повышение параметра $\theta_{ext}$, соответствующее усилению пристеночной активации системы свертывания, также способствует смещению облака вверх по потоку (уменьшению длины сноса $L$).

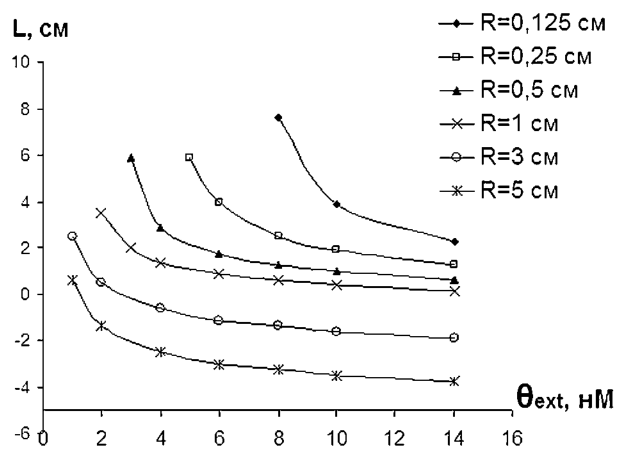



**Рис. 7.** Изменение характерной длины сноса облака микроагрегатов — L при вариации интенсивности контактной активации ($\Theta_{ext}$). Кривые построены для различных по размеру тканевых повреждений.

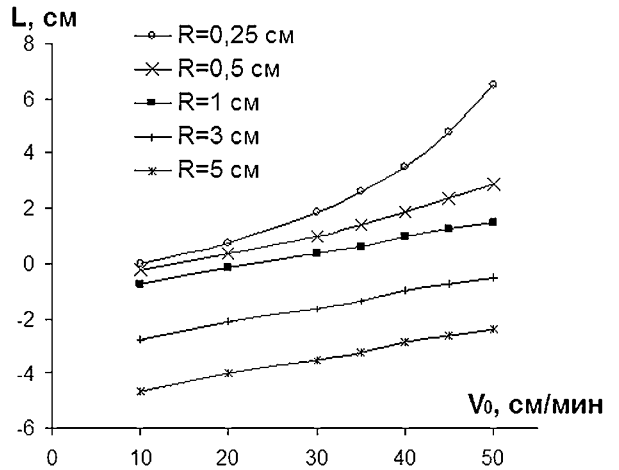



**Рис. 8.** Зависимость длины сноса облака микроагрегатов от скорости потока крови на оси сосуда ($V_0$) при разных радиусах тканевого повреждения.

Представленные данные показывают, что формирование в кровотоке множественных микроагрегатов (проявляющихся, в частности, на УЗИ в виде «дымки») может происходить только при достаточной (запороговой) степени выраженности тканевых воспалительных (опухолевых) процессов. Это позволяет думать, что обнаружение в кровотоке «дымок» может рассматриваться как серьезный индикатор наличия в области выше по потоку уже в достаточной степени развитого патологического процесса. В тех случаях, когда есть основания считать, что речь идет об очаге тканевого патологического процесса, он должен быть достаточно развитым по интенсивности и/или по размеру. В этом смысле сам факт появления в кровотоке «дымок» должен рассматриваться как ранний предвестник серьезных гемодинамических осложнений и катастроф [31].

## СООТНОШЕНИЯ ПОДОБИЯ

Представленные на **рисунках 9–10** данные показывают, что всякое развитие тканевого патологического процесса, проявляющегося, в частности, увеличением характерного размера области повреждения сосудистой стенки *(R)*, влечет за собой уменьшение характерной длины сноса «дымки» *(L)*.

Отвлекаясь от непосредственных молекулярных и/или клеточных причин, вызывающих развитие тканевого воспалительного (опухолевого) процесса, представляется заслуживающим особого внимания выяснить, с чисто геометрической точки зрения, какова взаимосвязь между размерами *R* и *L*. Поскольку само по себе наличие причинно-следственной взаимосвязи между тканевым воспалительным процессом и процессом активации свертывания в кровотоке не вызывает сомнений, представлялось целесообразным выявить свойственные этой взаимосвязи универсальные черты.

Следуя устоявшейся традиции, для выявления скрытых закономерностей, присущих различным функциональным зависимостям (в нашем случае отображенных на **рис. 9–10**), принято использовать процедуры перехода от графического к формульному представлению данных. Используя математический пакет (gnuplot v.4.0.0) удалось установить, что данные расчетов, представленные на **рисунках 10** и **11** наилучшим образом аппроксимируются уравнениями вида:

$$L = -aR + \frac{b}{R^2} + c \qquad (17)$$

где аппроксимационные параметры *a*, *b*, *c*, как показал анализ, в свою очередь определяются существенными параметрами задачи ($\theta_{ext}$, $V_0$, $\mu$, $D$ и т.д.).

Выражение (17), будучи приведено к безразмерному виду, обретает особенно элегантный вид:

$$\frac{\ell_1 - \ell^*}{\ell_2 - \ell^*} = \frac{r_1 - 1/r_1^2}{r_2 - 1/r_2^2} \qquad (18)$$

где в качестве характерного пространственного масштаба используется величина $R_0 = \sqrt[3]{b/a}$, и введены обозначения: $\ell = L/R_0$, $r = R/R_0$, $\ell^* = c/R_0$. Величины $\ell_1$ и $r_1$ соответствуют моменту времени $t_1$, а $\ell_2$ и $r_2$ — моменту $t_2$.

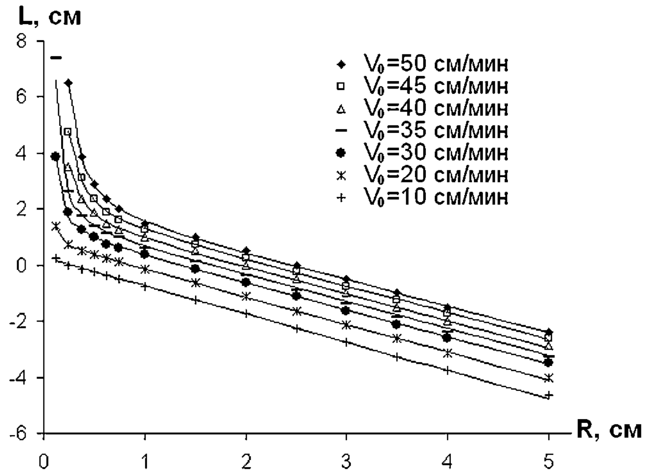



**Рис.9.** График зависимости длины сноса облака микротромбов от радиуса тканевого повреждения при разных скоростях потока крови.

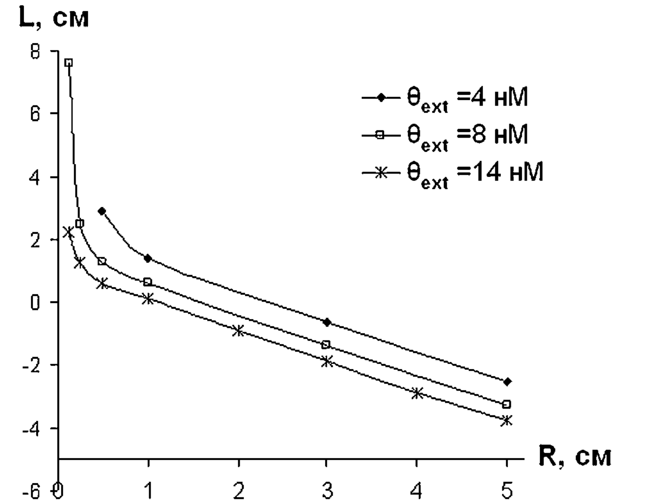



**Рис. 10.** График зависимости длины сноса облака микротромбов L от радиуса тканевого повреждения R при различной интенсивности пристеночной активации тромбообразования.

Зависимость параметров $\ell^*$ и $R_0$ от числа Рейнольдса показана на **рисунках 11a** и **11b**. Соотношение подобия (18) приобретает особенно изящный вид в предельных случаях. При $r_1$, $r_2$ << 1 имеем:

$$\frac{\ell_1-\ell^*}{\ell_2-\ell^*}=\left(\frac{r_2}{r_1}\right)^2 \qquad (19)$$

из чего ясно, что на начальных этапах прогрессии воспалительного тканевого процесса (при малых *r*) характерная величина сноса облака микроагрегатных сгустков — $\ell$ — будет убывать гиперболически.

В противоположном предельном случае $r_1$, $r_2$ >>1 из (18) несложно получить:

$$\frac{\ell_1-\ell^*}{\ell_2-\ell^*}=\frac{r_1}{r_2} \qquad (20)$$

Это соотношение показывает, что при достаточно развитом воспалительном процессе $(R/R_0)>>1$ взаимосвязь между величинами $\ell$ и $r$ приобретает линейный вид.

Нам представляется, что найденное свойство масштабной инвариантности может иметь значение, выходящее за рамки тех посылок, из которых мы исходили в своих расчетах. То есть выражение (18) и его производные (19) и (20) могут рассматриваться сами по себе как феноменологические и быть использованными при обработке экспериментальных данных. При этом значения $\ell^*$ и $R_0$ могут рассматриваться как параметры, подлежащие определению в каждом конкретном случае.

В частности, выражение (18) позволяет на основании данных о пространственных характеристиках тромбообразования в сосуде судить не только о размере вызывающего свертывание тканевого повреждения, но и, в ряде случаев, о стадии развития воспалительного процесса. Действительно, в тех случаях, когда экспериментально детектируемая связь между *L* и *R* носит гиперболический характер, мы в силу соотношения (19) определенно имеем дело с самыми ранними стадиями воспалительного процесса. Напротив, в тех случаях, когда указанная выше взаимосвязь носит линейных характер (20), уместно считать, что мы имеем дело с поздними стадиями развития воспаления.

## ОБСУЖДЕНИЕ

О наличии взаимной связи между воспалительными процессами и свертыванием, так же, как и о взаимосвязи опухолевых процессов со свертыванием, имеются сведения как в отечественной, так и в зарубежной литературе [16, 17, 18, 19, 20, 21, 31]. Основной вопрос состоит в том, как такого рода связь проявляется не на молекулярном и клеточном, а на макроскопическом уровне? Данная работа посвящена исследованию количественных аспектов взаимодействия тканевых и внутрисосудистых процессов с помощью методов математического моделирования.

С методической точки зрения данная работа можно рассматривать как развитие и продолжение выполненных ранее в нашей лаборатории работ *А.П.*

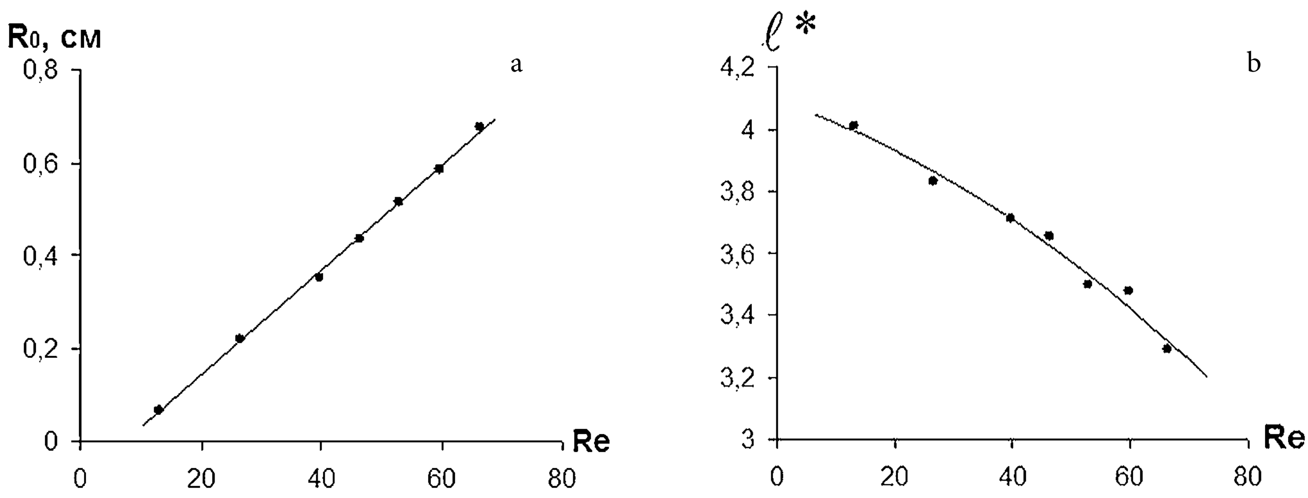



**Рис. 11a-b.** Графики зависимости параметров соотношения (18) от числа Рейнольдса ($R_e=L_rV_0/v$, где – кинематическая вязкость крови).

*Гузеватых, Г.Т. Гурия с соавт.* [25, 26], в которых изучались проблемы внутрисосудистого свертывания крови при малых числах Рейнольдса *(Re<<1).* Было показано, что при малых числах Рейнольдса и при сильно запороговых возмущениях в сосудах может иметь место зарождение и развитие солидных (сплошных) тромбов. При этом развитие процессов тромбообразования производилось с позиций теории возбудимых активных сред [8].

Особенностью данной работы является анализ процессов тромбообразования при достаточно высоких числах Рейнольдса *($R_e$~10)*, при этом в кровотоке складываются условия, характерные для слабо-возбудимых активных сред. Последним свойственны скорее *очаговые* режимы распространения автоволн, управляющих агрегационными переходами, чем режимы фронтального автоволнового распространения [32]. Поэтому в рассматриваемой нами системе при активации свертывания крови имело место формирование множественных микроагрегатов, а не солидных (с четкой границей раздела фаз) тромбов.

Следует отметить, что образование микроагрегатов в потоке, вообще говоря, возмущает основное течение, но степень этого возмущения полагалась нами малой, подобной той, какую обычно плавучие слабо концентрированные примеси оказывают на достаточно интенсивные потоки [33]. В простейшем случае мы считали ее пренебрежимо малой.

Это допущение позволяло формально расщепить рассматриваемую математическую задачу на две части. В рамках одной рассматривали движение сплошной среды при заданных граничных условиях, в рамках другой — кинетическую задачу о формировании микроагрегатов в заданном поле скоростей в потоке.

Проведенный анализ показал, что внутрисосудистая активация тромбообразования не начинается, если интенсивность и/или размер воспаления (опухоли) малы. Процессы внутрисосудистого тромбобразования стартуют только при превышении размером патологического очага некоторого критического (порогового) значения или при достаточно сильной контактной активации (**рис. 2**).

Было обнаружено, что при запороговой стимуляции процессов свертывания извне (вследствие тканевого воспалительного процесса) в кровотоке должно иметь место формирование микроагрегатной акустически детектируемой «дымки» (рис.6). Представленные в работе расчеты показывают, что, располагая сведениями о местоположении «дымки» в кровотоке (и изменениях этого местоположения во времени), можно судить об интенсивности тканевого воспалительного процесса и размере охваченной им области (**рис. 9, 10**).

Анализ построенной в данной работе модели позволил выявить универсальное *соотношение подобия* (18) между ключевой пространственной характеристикой внутрисосудистых процессов первичного тромбообразования — длиной сноса по потоку микроагрегатного облака *(L)* и размером тканевого патологического очага *(R).* Полученное соотношение подобия позволяет в ряде случаев судить о недоступных непосредственному наблюдению изменениях в динамике тканевого повреждения, опираясь на экспериментальные данные о развитии процессов внутрисосудистого тромбообразования. В частности, открылась возможность, используя предельные следствия *соотношения подобия* вида (19) и (20) при анализе лабораторно-диагностических данных (например, полученных с помощью УЗИ), судить о стадийности в развитии воспалительного процесса.

Можно предположить, что найденные нами закономерности позволят пролить дополнительный свет на интенсивно изучаемую последнее время проблему о взаимосвязи между воспалительными процессами и гемостазиологическими нарушениями [31].

В этой связи представляется важным подчеркнуть, что появление в кровотоке той или иной микроагрегатной «дымки» должно рассматриваться, как проявление перехода системы активации свертывания крови в околопороговый «тлеющий» режим. Наличие «дымки» отражает близость системы свертывания к границе порога устойчивости жидкого состояния. Широкий круг воздействий (изменения артериального давления, вязкости крови и др.) может легко вывести ее из этого состояния. При этом кровь в одних случаях может вернуться к нормальному, жидкому состоянию, но возможен и сдвиг в сторону еще более сильного тромбообразования. Именно поэтому изучаемые в данной работе режимы, при которых имеют место «дымки» из микроагрегатов, могут сами по себе рассматриваться как предвестники серьезных осложнений и катастроф, связанных с тромбированием сосудов, развитием ДВС и т.п.

Важную роль гемодинамические факторы играют в неврологии, в частности при инсультах. В разных возрастных группах в качестве причин кардиоэмболического инсульта доминируют разные заболевания, причем ревматические пороки и инфекционный эндокардит занимают хотя и не ведущую, но существенную долю во всех возрастных группах [7]. Можно предположить, что появление в кровотоке микроагрегатов, образованных в результате воспалительного процесса, обуславливает закупорку мелких церебральных сосудов. Таким образом, в неврологическом контексте наличие облака микроагрегатов в кровотоке само по себе может рассматриваться как опасное предзнаменование.

Сделанное в данной работе предположение о неизменности вязкости крови с появлением микроагрегатов остается верным лишь до тех пор, пока количество микроагрегатов в потоке не слишком велико. С усилением процесса микроагрегации изменения в вязкости неизбежно должны иметь место. Кровь имеет, условно говоря, собственную «базовую» вязкость, определяемую гематокритом и свойствами плазмы, дополняющуюся при описываемых явлениях микроагрегации некоторой «наведенной» вязкостью. Увеличение общей эффективной вязкости должно, по нашему мнению, вести к уменьшению среднего сердечного выброса, и, как следствие, с течением времени, к развитию тахикардии. Поэтому появление в кровотоке микроагрегатов должно рассматриваться как ранний предвестник возможных кардиологических осложнений, проявляющихся, в частности, на ЭКГ.

Тяжелые тромботические венозные заболевания часто встречаются в клинической практике, их устранение требует оперативных вмешательств. С высокой долей вероятности оперативных вмешательств можно было бы избежать, если бы использовались эффективные методы ранней диагностики тромботических осложнений. Представляется, что одним из таких методов могло бы стать более внимательное исследование вен с помощью УЗИ на предмет выявления в них не только стационарных и флотирующих тромбов, но и микроагрегатных «дымок». Последним, в тех случаях, когда они действительно наблюдаются, по нашему мнению, не уделяется должного внимания. С одной стороны — из-за слабой контрастности их изображения на мониторе УЗИ-аппарата, а с другой — в силу сложившейся традиции искать крупные, а не микроскопические тромбы.

Надо отметить, что ультразвуковые методы широко используются при исследовании артериальных сосудов. В частности, известно, что рыхлые тромбы могут быть весьма эффективно выявлены с помощью УЗИ [15]. УЗИ позволяет выявить «дымку» непосредственно в момент появления спонтанного эхо-контраста.

С нашей точки зрения формирование микроагрегатных «дымок» в кровотоке надлежит рассматривать как одну из ранних стадий активации внутрисосудистого свертывания, как этап в развитии процесса внутрисосудистого тромбообразования. Проведенные ранее в нашей лаборатории эксперименты показывают, что вслед за появлением в потоке микроагрегатной «дымки» (или «метели»), как правило, наступает стадия условно называемая «бураном», характеризующаяся появлением в потоке «комьев» — своеобразных кластеров из микроагрегатов [8]. Агрегация «комьев», в свою очередь, происходит на еще более поздних стадиях и приводит к формированию макроскопических тромбов в сосуде.

В свете вышеизложенного, появление внутрисосудистой «дымки» несомненно должно рассматриваться, с одной стороны, как ранний предвестник последующего тромбоза, а с другой, — как признак наличия в организме воспалительного (опухолевого) процесса.

Полученное в данной работе соотношение подобия (18) открывает принципиальную возможность судить о стадийности развития, темпе и интенсивности протекающих в тканях патологических процессов, недоступных или труднодоступных для непосредственного наблюдения, на основании данных о характере внутрисосудистого микротромбообразования.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### ОБЕЗРАЗМЕРИВАНИЕ. ЧИСЛЕННАЯ СХЕМА

В силу осевой симметрии рассматривался только «разрез» сосуда с малым углом раствора, как показано на **рисунке 12**.

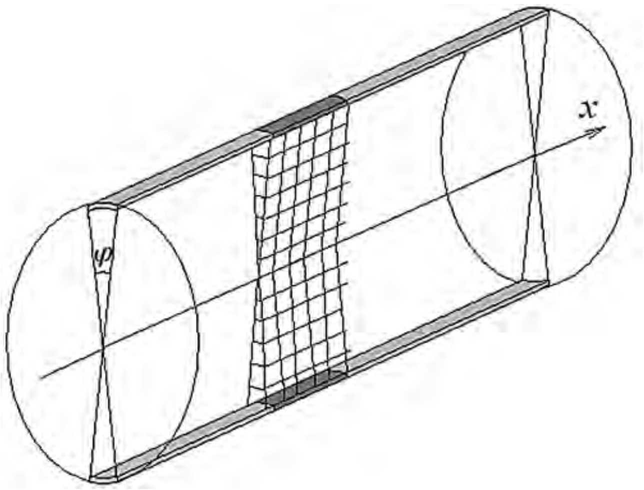



**Рис. 12.** В силу осевой симметрии в рассмотрение принимался не весь сосуд, а его часть, полученная сечением двумя плоскостями, находящимися под малым углом $\varphi$ друг к другу, проходящими через ось сосуда. Темное пятно на стенке – место пристеночной активации свертывания. Сеткой схематично показано разбиение расчетной области на ячейки для численного решения задачи.

Система уравнений (1)–(15), была обезразмерена следующим образом:

$$\tau = t(\alpha - \kappa_1),\ \tilde{x} = \frac{x}{L_r},\ \tilde{y} = \frac{r + L_r/2}{L_r},\ \text{тогда}\ \tilde{\vec{V}} = \frac{\vec{V}}{L_r(\alpha - \kappa_1)}$$

$$u_0 = \frac{F_g}{F_0},\ u_i = \frac{F_i}{F_0},\ i = 1\,..\,15,\ u_{16} = \frac{\theta}{\theta_0},\ u_{17} = \frac{\varphi}{\varphi_0} \tag{1.1}$$

Уравнения (1)–(6) с учетом обезразмеривания имели вид:

$$\frac{\partial u_0}{\partial \tau} = -k_0 u_0 \cdot u_{16} + \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_0 - \tilde{\vec{V}} u_0\right) \tag{1.2}$$

$$\frac{\partial u_1}{\partial \tau} = k_0 u_0 \cdot u_{16} - a_1 + \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_1 - \tilde{\vec{V}} u_1\right) \tag{1.3}$$

$$\frac{\partial u_{2s}}{\partial \tau} = b_s - a_{2s} + \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_{2s} - \tilde{\vec{V}} u_{2s}\right) \tag{1.4}$$

$$\frac{\partial u_{2s+1}}{\partial \tau} = c_s - a_{2s+1} + \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_{2s+1} - \tilde{\vec{V}} u_{2s+1}\right) \tag{1.5}$$

$$\frac{\partial u_{16}}{\partial \tau} = u_{16}\frac{u_{16} - k_{16}}{u_{16} + 1} - k_i u_{16} u_{17} + \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_{16} - \tilde{\vec{V}} u_{16}\right) \tag{1.6}$$

$$\frac{\partial u_{17}}{\partial \tau} = \tilde{\beta} u_{16}\left(1 - e u_{17}\right)\left(1 + u_{17}^2\right) - k_{17} u_{17} + \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_{17} - \tilde{\vec{V}} u_{17}\right) \tag{1.7}$$

$$s = 1\ldots7,\ a_s = g u_s \sum_{i=1}^{15} u_i,\ b_s = g \sum_{i=1}^{s} u_i u_{2s-i},\ c_s = g \sum_{i=1}^{s} u_i u_{2s+1-i}$$

Оператор $\tilde{\tilde{\nabla}}$ обозначает дифференцирование по новым переменным $\tilde{x}, \tilde{y}$.

Граничные условия в безразмерном виде:

$$u_0\big|_{\tilde{x}=0} = 1 \tag{1.8}$$

$$u_i\big|_{\tilde{x}=0} = 0,\quad i = 1, 2, \ldots 17 \tag{1.9}$$

$$\left.\frac{\partial^2 u_i}{\partial \tilde{x}^2}\right|_{\tilde{x}=L_x/L_r} = 0,\quad i = 0,\,..\,17 \tag{1.10}$$

$$\left.\frac{\partial u_i}{\partial \tilde{y}}\right|_{\tilde{y}=0} = \left.\frac{\partial u_i}{\partial \tilde{y}}\right|_{\tilde{y}=1} = 0,\quad i = 0, 1, \ldots, 15, 17 \tag{1.11}$$

$$\left.\frac{\partial u_{16}}{\partial \tilde{y}}\right|_{\tilde{y}=0} = \left.\frac{\partial u_{16}}{\partial \tilde{y}}\right|_{\tilde{y}=1} = 0\quad \tilde{x} \in \left(0; \frac{X_0 - R}{L_r}\right) \cup \left(\frac{X_0 + R}{L_r}; \frac{L_x}{L_r}\right) \tag{1.12}$$

$$\left.\frac{\partial u_{16}}{\partial \tilde{y}}\right|_{\tilde{y}=0} = \left.\frac{\partial u_{16}}{\partial \tilde{y}}\right|_{\tilde{y}=1} = \omega(u_{16} - u_{ext})\quad \tilde{x} \in \left[\frac{X_0 - R}{L_r}; \frac{X_0 + R}{L_r}\right] \tag{1.13}$$

Начальные условия внутри области:

$$u_0\big|_{\tau=0} = 1 \tag{1.14}$$

$$u_i\big|_{\tau=0} = 0,\ i = 1, 2, \ldots 17 \tag{1.15}$$

Безразмерная скорость:

$$\tilde{V}_{\tilde{x}} = \tilde{V}_0 \cdot 4\tilde{y}\left(\tilde{y} + 1\right) \qquad \tilde{V}_r = 0 \tag{1.16}$$

Безразмерные параметры системы (1.2)–(1.16) приведены в **таблице П1**.

Система уравнений (1.2)–(1.7) с граничными условиями (1.8)–(1.13) и начальными условиями (1.14)–(1.15) решалась численно методом простых итераций [33] в прямоугольной области $[0, L_x] \times \times [-L_r/2, L_r/2]$ ($L_r$ — диаметр, а $L_x$ — длина сосуда) с шагом по времени $d\tau = 0.00195$. Для этого расчетная область была разбита на квадратные ячейки со стороной $h_x = h_y = \frac{0{,}125 см}{L_r} = \frac{1}{24}$.

Отдельно рассчитывалась реакционная, диффузионная и конвективная часть. Внутри каждого итерационного шага реакционная часть приращения концентрации находилась методом Рунге-Кутты 4 порядка точности [33].

Каждое из уравнений (1.2)–(1.7) можно представить в виде:

$$\dot{u}_i = R + D + K \tag{1.17}$$

где через $R$, $D$ и $K$ реакционная, диффузионная и конвективная части уравнения соответственно.

$$D = \tilde{\tilde{\nabla}}\left(d \cdot \tilde{\tilde{\nabla}} u_i\right) \qquad K = \tilde{\tilde{\nabla}}\left(-\tilde{\tilde{V}} u_i\right) \tag{1.18}$$

При этом для вычисления членов $D$ и $K$ использовалась явная схема. Реакционная часть $R$ для каждого реагента в каждой ячейке находилось методом Рунге-Кутты 4 порядка точности.

Для нахождения $D$ вначале рассчитывались диффузионные потоки по $x$ и по $y$:

$$w^x_{k,j} = d\frac{u_{k-1,j} - u_{k,j}}{h_x} \qquad w^y_{k,j} = d\frac{u_{k,j-1} - u_{k,j}}{h_y} \tag{1.19}$$

где использовано обозначение: $u_{k,j} = u_i\big|_{\tilde{x}=h_x \cdot k, h_y = d\tilde{y} \cdot j}$. Индекс $i$, отражающий номер реагента здесь не приведен, но каждый этап описываемого расчетного процесса включал расчет соответствующих переменных для всех уравнений (1.2)–(1.7).

После расчета диффузионных потоков для всех реагентов, рассчитывалась диффузионная часть:

$$D_{k,j} = \frac{w^x_{k,j} - w^x_{k+1,j}}{h_x} + \frac{w^y_{k,j} - w^y_{k,j+1}}{h_{yx}} + D_{axial} \tag{1.20}$$

где $D_{axial}$ — аксиальная поправка, которая введена для того, чтобы учесть, что эффективный объем каждой расчетной ячейки зависит от ее удаленности от оси сосуда. Эта поправка рассчитывалась по формуле:

$$D_{axial} = \frac{w_{ykj} + w_{ykj-1}}{h_y(2j-1)} \tag{1.21}$$

Конвективная часть, с учетом того, что поток одномерный (направлен вдоль оси сосуда) и однонаправленный ($V_x > 0$) рассчитывалась по формуле:

$$K_{k,j} = v_j \frac{u_{k-1,j} - u_{k,j}}{h_x} \tag{1.22}$$

Расчет $R$, $D$ и $K$ для каждой расчетной ячейки и для всех реагентов составлял один итерационный шаг метода простых итераций. После каждого шага вычислялось текущее значение концентрации каждого реагента в каждой ячейке:

$$u^{n+1}_\sigma = u^n + \tau(R + D + K) \tag{1.23}$$

где $\sigma$ — номер итерационного шага.

Затем текущее значение сравнивалось со значением на предыдущем итерационном шаге, для чего в каждой ячейке $(k, j)$ вычислялась величина:

$$\varepsilon_{kj} = \sum_{i=0}^{17}\left(u^{n+1}_\sigma - u^{n+1}_{\sigma-1}\right)^2 \tag{1.24}$$

где $i$ отражает суммирование по всем реагентам в данной ячейке. Затем находилось максимальное значение $\varepsilon_{max}$ по всем ячейкам:

$$\varepsilon_{\max} = \max_{(k,j)} \varepsilon_{kj} \tag{1.25}$$

Если эта величина оказывалась меньше некоторой заранее заданной точности $\varepsilon$, то итерационная процедура завершалась, и осуществлялся переход к следующему шагу по времени.

*Таблица П1.*

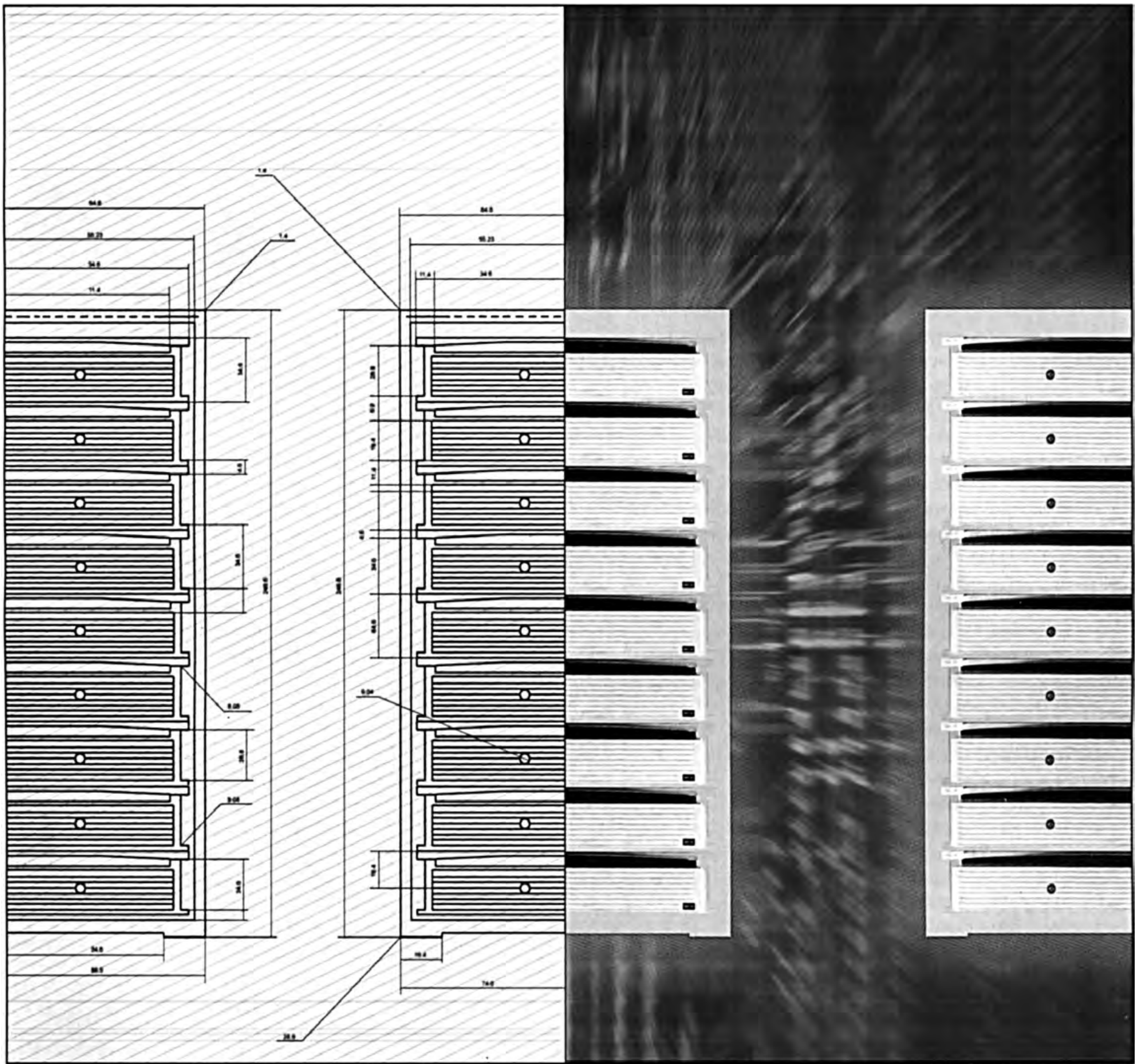
**Параметры обезразмеренной системы (1.2)–(1.16)**

| | | | |
|---|---|---|---|
| $k_0 = \frac{k_g \theta_0}{\alpha - \kappa_1}$ | $u_{ext} = \frac{\theta_{ext}}{\theta_0}$ | $d = \frac{D}{4R^2(\alpha - \kappa_1)}$ | $k_1 = \frac{\gamma\varphi_0}{\alpha - \kappa_1}$ |
| $k_{16} = \frac{\kappa_1}{\alpha - \kappa_1}$ | $e = \frac{\varphi_0}{c}$ | $\omega = \frac{\mu}{2R(\alpha - \kappa_1)}$ | $g = \frac{F_0 k_p}{\alpha - \kappa_1}$ |
| $\tilde{\beta} = \frac{\beta\theta_0}{(\alpha - \kappa_1)\varphi_0}$ | $u_\Gamma = \frac{F_\Gamma}{F_0}$ | $\tilde{V}_0 = \frac{V_0}{L_r(\alpha - \kappa_1)}$ | $k_{17} = \frac{\kappa_2}{\alpha - \kappa_1}$ |

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Ферстрате М., Фермилен Ж. Тромбозы. — М.: Медицина, 1986. — 336 с.*
2. *Соловьев Г.М., Радзивил Г.Г. Кровопотеря и кровообращение в хирургии. — М.: Медицина, 1973. — 336 с.*
3. *Mikell F.L., Asinger R.W., Elsperger K.J. et al. Stasis of Blood*

in the Dysfunctional Left Ventricle: Echocardiographic Detection and Differentiation from Early Thrombosis // Circulation. — 1982. — Vol. 66, № 4. — P. 755-763.
4. Daniel W.G., Nellessen U., Schroder E. et al. Left atrial spontaneous echo contrast in mitral valve disease: an indicator for an increased thromboembolic risk // J. Am. Coll. Cardiol. — 1988. — Vol. 11, № 6. — P. 1204-1211.
5. Castello R., Pearson A.C., Labovitz A.J. Prevalence and clinical implications of atrial spontaneous contrast in patients undergoing transesophageal echocardiography // Am. J. Cardiol. — 1990. — Vol. 65, № 16. — P. 1149-1153.
6. Pitsavos C., Aggeli C., Lambrou S. et al. Prognosis of spontaneous echocardiographic contrast in the thoracic aorta // Am. J. Cardiol. — 2003. — Vol. 91, № 7. — P. 822-826.
7. Фонякин А.Ф., Суслина З.А., Гераскина Л.А. Кардиологическая диагностика при ишемическом инсульте. — Инкарт: Санкт-Петербург, 2005. — 224 с.
8. Гурия Г.Т. Макроскопическое структурообразование в динамике крови: Дисс…докт. наук. — М.: МГУ, 2002. — 367 с.
9. Шевкопляс С.С. Экспериментальное изучение пространственного тромбообразования в интенсивных потоках in vitro. — Работа на соискание степени магистра: МФТИ, ГНЦ РАМН, 2000.
10. Ercan E., Baris N., Tengiz I. et al. Femoral signal intensity. A new method for prediction of embolic risk // Japaneese Heart J. — 2003. — Vol. 44, № 5. — P. 705-712.
11. Fatkin D., Loupas T., Low J., Feneley M. Inhibition of Red Cell Aggregation Prevents Spontaneous Echocardiographic Contrast Formation in Human Blood // Circulation. — 1997. — Vol. 96. — P. 889-896.
12. Merino A., Hauptman P., Badimon L. et al. Echocardiographic “Smoke” is produced by an interaction of erythrocytes and plasma proteins modulated by shear forces // J. Am. Coll. Cardiol. — 1992. — Vol. 20, № 7. — P. 1661-1668.
13. Mahony C., Ferguson J., Fischer P.L. Red cell aggregation and the ehogenicity of whole blood // Ultrasound Med. Biol. — 1992. — Vol. 18. — P. 579-586.
14. Wang X.-F., Liu L., Cheng T.O. et al. The relationship between intracardiovascular smoke-like echo and erythrocyte rouleaux formation // Am. Heart J. — 1992. — Vol. 124, № 4. — P. 961-965
15. Бузиашвили Ю.И., Шумилина М.В. Патогенез ишемических нарушений головного мозга. — Эндоваскулярная хирургия при патологии брахиоцефальых артерий: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2001. — С. 25-28.
16. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И., Тлепушков И.К. Физиология системы гемостаза. — М., 1995.
17. Балуда В.П., Балуда М.В., Тлепушков И.К., Цыб А.Ф. Рак и тромбоз. — Москва-Обнинск, 2001.
18. Esmon C.T. Interactions between the innate immune and blood coagulation systems // Trends in Immunology. — 2004. — Vol. 25, № 10. — P. 536-542.
19. Esmon C.T. Crosstalk between inflammation and thrombosis // Maturitas, 2004. — Vol. 47. — P. 305-314.
20. Levi M., van der Poll T., Büller H.R. Bidirectional Relation Between Inflammation and Coagulation // Circulation. — 2004. — Vol. 109. — P. 2698-2704.
21. Laszik Z., Mitro A., Taylor F.B. et al. Human Protein C Receptor Is Present Primarily on Endothelium of Large Blood Vessels. Implications for the Control of the Protein C Pathway // Circulation. — 1997. — Vol. 96. — P. 3633-3640.
22. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома // Materia Medica. — 1997. — № 1. — С. 5-14.
23. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед, 1999. — 217 с.
24. Кудряшов Б.А., Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови и ее свертывания. — М.: Медицина, 1975. — 488 с.
25. Чуличков А.Л., Николаев А.В., Лобанов А.И., Гурия Г.Т. Пороговая активация свертывания крови и рост тромба в условиях кровотока. Теоретический анализ // Математическое моделирование. — 2000. — Т. 12, № 3. — С. 75-96.
26. Гузеватых А.П., Лобанов А.И., Гурия Г.Т. Активация внутрисосудистого тромбообразования вследствие развития стеноза // Математическое моделирование. — 2000. — Т. 12, № 4. — С. 39-60.
27. Colman R.W., Schmaier A.H. The contact activation system: Biochemistry and interactions of the surface mediated defence reactions // CRC Crit. Rev. in Ocn. Hem. — 1986. — Vol. 5, № 1. — P. 57-69.
28. Vogler E.A., Graper J.C., Harper G.R. et al. Contact activation of the plasma coagulation cascade. I. Procoagulant surface energy and chemistry // J. Biomed. Mater. Res. — 1995. — Vol. 29. — P. 1005-1016.
29. Vogler E.A., Nadeau L.G., Graper J.C. Contact activation of the plasma coagulation cascade. III. Biophysical aspects of thrombin-binding anticoagulants // J. Biomed. Mater. Res. — 1998. — Vol. 40, № 1. — P. 92-103.
30. Гузеватых А.П. Пороговая гидродинамическая активация внутрисосудистого тромбообразования. — Дисс… канд. физ.-мат. наук: М., 2000.
31. Воробьев А.И. Острая массивная кровопотеря // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии, XII междун. конф., http://www.perftoran.info.
32. Попцова М.С. Трансформация автоволн в локально неоднородных активных средах. — Дисс… канд. физ.-мат. наук: М., 2004.
33. Федоренко Р.П. Введение в вычислительную физику. — М.: МФТИ, 1994.



## ОБЗОРЫ

# МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРРЕКЦИЯ (ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА) ТРОМБОЭМБОЛИИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ

*В. Л. Виноградов, Г. А. Суханова, С. А. Васильев*
*Гематологический Научный Центр РАМН, Москва*

# DRUG CORRECTION (TREATMENT AND PROPHYLAXIS) OF PULMONARY EMBOLISM

*V. L. Vinogradov, G. A. Suchanova, S. A. Vasiljev*
*Hematological Research Center RAMS, Moscow*

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) — патология сосудов легочного кровообращения, обусловленная их тромботической окклюзией — привлекает внимание специалистов многих профилей (кардиологов, пульмонологов, кардиохирургов, нейрохирургов, коагулологов и др.) уже на протяжении ряда десятилетий [1, 31, 40, 53]. Это заболевание, чаще всего вызываемое флотирующими тромбами из подвздошно-бедренного сегмента глубоких вен нижних конечностей или нижней полой вены, нередко заканчивается летальным исходом. В большинстве случаев это объясняется слишком поздним установлением диагноза, который иногда ставится вообще посмертно [1–3]. Между тем благополучный исход заболевания вполне возможен при своевременном диагнозе; существуют также эффективные профилактические меры. Медикаментозное лечение и профилактика ТЭЛА занимают особое место в проблеме, как щадящие и удобные для больного. По некоторым данным, летальность без лечения достигает 40%, тогда как при своевременном лечении она снижается до 10% [3]. Антитромботическая терапия ТЭЛА является предметом пристального внимания исследователей уже с конца 30-х годов. Buller et al выделяют три основных этапа ее развития [1].

Первый этап — с 1938 года до начала 1960-х — характеризовался внедрением гепарина, применявшегося как индивидуально, так и в сочетании с антагонистами витамина К (АВК). Главным критерием исследования на этом этапе была выживаемость больных. Этот этап начался с исследования Murray and Best (1938), которые впервые сообщили о внутривенном применении гепарина при лечении семи больных ТЭЛА [3]. Результаты лечения были весьма успешными: все больные показали быстрое клиническое улучшение, и в дальнейшем ни у одного из них рецидивов ТЭЛА не наблюдали.

Еще одно значительное исследование первого этапа изучения медикаментозного лечения ТЭЛА выполнено Bauer в 1946 году [1]. Автор сообщил о весьма эффективном внутривенном применении гепарина при лечении 209 больных венозной тромбоэмболией (ВТЭ). Нельзя не отметить, что уже тогда обозначилась тенденция нозологического отождествления ТЭЛА и тромбоза глубоких вен (ТГВ) и их объединения в понятие ВТЭ [35]. В исследовании было зафиксировано только три смертельных случая.

Следующей важной работой этого этапа было исследование *Allen et al* (1947), выполненное на 329 больных ТЭЛА с применением гепарина и антагониста витамина К (АВК) — дикумарола [1]. Наблюдали всего один смертельный случай.

Завершило первый этап единственное рандомизированное исследование Barrit and Jordan, выполненное в 1960 году [4]. Исследование было проведено на 35 больных ТЭЛА с применением гепарина и орального АВК никумалона (уже более совершенного препарата из ряда кумариновых производных). Внутривенные инъекции гепарина (10000 МЕ) проводили каждые 6 часов в общем количестве 6 доз в сочетании с никумалоном в течение 14 дней. Исследование было прекращено досрочно, после того как среди 16 лечившихся больных не наблюдали ни одного смертельного случая и ни одного рецидива, в то время как среди нелечившихся больных пятеро умерли от рецидива ТЭЛА, и еще у пятерых был нелетальный рецидив. После расширения группы лечившихся больных до 54 только у одного из них наблюдали нелетальный рецидив ТЭЛА.

Второй этап изучения данной проблемы начался с 1970-х годов и продолжался до начала 1990-х годов. Главным предметом исследования на данном этапе являлась уже не выживаемость больных, а документированные, объективно подтвержденные случаи рецидива ВТЭ в течение 3–6 месяцев. Главным критерием безопасности больного в этот период считали обширное кровотечение как результат антикоагулянтной терапии. Этот второй этап развития медикаментозного лечения ТЭЛА (точнее, ВТЭ) характеризовался достижениями в мониторинге гепаринового лечения и АВК-терапии [5–7]. Были выведены нормы активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) для контроля гепаринотерапии и установлен интервал значений международного нормализованного отношения (МНО) — 2,0–3,0 для контроля применения АВК. Кроме того, была откорректирована продолжительность первичной терапии: было показано, что 5-дневный курс лечения гепарином не менее эффективен, чем 10-дневный [8, 9].

Третий этап эволюции антитромботической терапии ТЭЛА (ВТЭ) ознаменовался внедрением в клиническую практику низкомолекулярных гепаринов (НМГ) в начале 1990-х годов. Частота рецидивов ТЭЛА (ВТЭ) продолжала оставаться в центре внимания, но к ней прибавились такие критерии, как безболезненность и удобство для больного, а также отсутствие лабораторного мониторинга [1]. Благодаря успешному применению НМГ в начале лечения и последующему применению АВК удалось добиться снижения частоты рецидивов до 2–5% в первые три месяца со времени первичного события ТЭЛА. Поэтому внимание исследователей постепенно перемещалось с этого показателя на дальнейшее улучшение состояния больного. Такой большой успех применения стандартного НМГ в фиксированных дозах (с поправкой только на массу тела, один или два раза в день) объяснялось не столько эффективностью препарата, сколько удобством его применения и возможностью лечения больного вне стационара [10, 11]. Можно сказать, что внедрение НМГ в сочетании с новыми, усовершенствованными АВК произвело революцию в лечении ТЭЛА. Однако это было только начало третьего, последнего этапа его развития. Вслед за НМГ были разработаны и внедрены в клиническую практику новые антитромботические препараты для орального применения, а также пентасахариды пролонгированного действия, которые при стандартной схеме лечения достаточно давать больному один раз в неделю [1]. Далее внимание исследователей сосредоточилось на удобстве приема препаратов для больного. Эти средства могут даваться больному в фиксированных дозах, что позволяет в случае рецидива выявить ошибки в лечении: является ли рецидив следствием недостаточного лечения на первичном этапе, или же ошибка была допущена уже на последующем этапе долговременного лечения. Кроме того, предметом особого внимания становится безопасность антитромботической терапии. Если ранее придавалось значение только обширным кровотечениям, то на этом этапе исследований предметом изучения становятся клинически оправданные кровотечения, естественные при применении антитромботических препаратов, но не соответствующие критериям обширного кровотечения. При АВК-терапии такие кровотечения могут случаться в течение трех месяцев лечения у 5–10% больных [1]. Новые антитромботические средства необходимо тестировать на максимальное отсутствие этого риска. Частота же обширных кровотечений при применении современных препаратов снизилась до 1–2%.

На всех трех этапах изучения медикаментозного лечения ТЭЛА предметом внимания неизменно оставался спектр средств лечения, связанный со степенью тяжести заболевания. При массивной ТЭЛА с серьезным нарушением перфузии легких может быть показана тромболитическая терапия, и даже хирургическое вмешательство. При легкой форме заболевания без тенденции к внутрисосудистому распространению и рецидивам может не потребоваться даже антитромботическая терапия. Однако большинство случаев ТЭЛА приходится именно на середину спектра. Такие случаи требуют антикоагулянтной терапии, как правило, НМГ и АВК.

В настоящее время для первичной терапии ТЭЛА рекомендуются НМГ (дальтепарин и др.), вводимые подкожно в дозах с поправкой только на массу тела, без необходимости лабораторного мониторинга. Нефракционированный гепарин, вводимый подкожно или внутривенно, безусловно, является адекватной альтернативой НМГ [32]. Однако последнему отдается предпочтение, поскольку, не уступая гепарину в эффективности, он более безопасен. А именно, при лечении НМГ отмечается более низкая общая смертность, особенно у больных с сопутствующим раковым заболеванием, и меньший риск гепарин-индуцированной тромбоцитопении. Кроме того, НМГ дает возможность полного или частичного внестационарного лечения больного [12–14]. Оральный прием АВК следует начинать в первый же день лечения вместе с НМГ, а прекращать введение НМГ рекомендуется при стабильном МНО свыше 2,0 [12, 46, 48]. Введение НМГ (как и нефракционированного гепарина) должно длиться не менее 5 дней, поскольку пока что нет ни одного сообщения о том, что при меньшей продолжительности лечение может быть эффективным [1, 12].

Недавно для первичного лечения ТЭЛА прошел испытания синтетический пентасахарид фондапаринукс [15, 16, 40]. Результаты испытаний убедительно показали, что фондапаринукс, вводимый подкожно, в сочетании с АВК не уступает нефракционированному гепарину, вводимому внутривенно, ни в эффективности, ни в безопасности.

Особое место в первичном лечении ТЭЛА занимает тромболитическая терапия. Результаты 11 сравнительных исследований, выполненные *Wan et al* с 1973 по 2002 год, четко показали, что подавляющее большинство больных ТЭЛА в таком лечении не нуждается [17]. В этих исследованиях применялись разные типы тромболитиков и схемы лечения; в частности, в недавнем исследовании вливали в течение 2 часов до 100 мг рекомбинантного тканевого плазминоген-активирующего фактора (тПАФ). В итоге был сделан интересный вывод: в тромболитической терапии нуждаются только больные обширной ТЭЛА, диагностируемой по гемодинамической нестабильности (в большинстве случаев по систолическому кровяному давлению ниже 90–100 мм рт.ст.). Такие больные составляют 1-5% всех случаев ТЭЛА. Именно у них применение тромболитиков (стрептокиназы, урокиназы, тПАФ) снижает риск и частоту рецидивов ТЭЛА приблизительно вдвое, причем обязательным условием является отсутствие противопоказаний. Для всех прочих (гемодинамически стабильных) больных применение тромболитиков не показано (принимая во внимание удвоенный риск обширного кровотечения) [45].

Долговременное лечение ТЭЛА, по современным воззрениям, предполагает применение АВК, за исключением случаев сопутствующих раковых заболеваний. Регуляция дозы АВК сводится к поддержанию МНО на уровне 2,0–3,0 на протяжении всего лечения [12, 46]. При наличии у больных ТЭЛА раковых заболеваний для долговременного лечения ТЭЛА предпочтительнее применять НМГ вместо АВК. Рандомизированное исследование *Lee et al* показало, что 3–6-месячный курс НМГ для таких больных эффективнее, чем АВК-терапия стандартной интенсивности: наблюдается вдвое меньшая частота рецидивов при одинаковом риске кровотечения [18]. Эти данные подтверждаются другими авторами [19]. С биологической точки зрения допустимо и дальнейшая (по истечении 6 месяцев) НМГ-терапия таких больных, хотя данные об этом не опубликованы.

Имеются также данные об эффективности применения АВК для лечения больных ТЭЛА с различными аномалиями системы гемостаза. Так, для больных с первичным эпизодом ТЭЛА и выраженной тромбофилической аномалией (дефицит антитромбина, протеина С или протеина S, мутация гена фактора V, мутация гена протромбина 20210 или высокий уровень фактора VIII) по современным данным продолжительность лечения АВК должна составлять 6–12 месяцев [1, 12]. Целесообразность более длительной АВК-терапии таких больных должна определяться индивидуально. Для больных с первичным эпизодом ТЭЛА и документально зафиксированными случаями выявления антифосфолипидных антител или с двумя или более тромбофилическими состояниями также рекомендуется АВК-терапия в течение 12 месяцев [12]. Возможны случаи, требующие еще более длительного лечения с применением препаратов АВК.

Изучение функционирования системы свертывания крови на молекулярном уровне позволило к настоящему времени разработать целый ряд усовершенствованных, эффективных препаратов-антикоагулянтов. Основная их классификация, предложенная в последние годы рядом авторов, сводится к их подразделению на три категории: 1) препятствующие инициации свертывания (формированию комплекса тканевой фактор/фактор VIIa); 2) ингибирующие распространение процесса свертывания крови по поверхности стенки сосуда и тканей (т.е. фактор Xa, а также кофакторы его генерации); 3) ингибирующие активность тромбина [1, 42].

Другая предложенная классификация этих препаратов подразделяет их на антикоагулянты прямого и непрямого действия [1, 40]. К первым, например, относятся ингибиторы тромбина и фактора Xa. Ко второй группе *Buller et al* относят в основном синтетические пентасахариды, для активности которых необходим природный антикоагулянт антитромбин [1]. Однако главная разница между этими двумя группами препаратов заключается в том, что пентасахариды (фондапаринукс и идрапаринукс) должны вводиться в виде подкожных инъекций, тогда как все антикоагулянты прямого действия вводятся орально один или два раза в день, практически не требуя дозового мониторинга. Достоинства фондапаринукса при первичном лечении ТЭЛА не вызывают сомнений. Другой синтетический полисахарид идрапаринукс обладает тем уникальным свойством, что его можно вводить подкожно всего один раз в неделю. Еще предстоят обширные исследования по схеме применения этих препаратов, относящиеся к третьему этапу эволюции лечения ТЭЛА. Другие оральные прямые ингибиторы фактора Ха в настоящее время изучаются в исследованиях второго этапа [1].

С другой стороны, к антикоагулянтам непрямого действия, безусловно, следует причислить и антагонисты витамина К (АВК), т.е. препараты — ингибиторы синтеза в печени витамин-К-зависимых факторов свертывания (факторов VII, X, IX и II) [40]. К ним принадлежат производные кумарина (варфарин, синкумар, пелентан и др.), а также фенилин. Препараты этой группы (АВК), применяемые при гепаринотерапии как добавочные средства именно для снижения риска кровотечения, все же не могут полностью устранить этот риск. Особенно это относится к препаратам кумаринового ряда. Снижение отрицательного эффекта АВК-терапии является предметом пристальных изысканий последних лет [1].

Наиболее испытанным оральным ингибитором тромбина в целях лечения ТЭЛА является ксимелагатран. Обладая максимальной эффективностью в отношении снижения риска рецидивов ТЭЛА при минимальном риске кровотечений, он, тем не менее, необъяснимым образом повышает активность ферментов печени у 6–12% больных, что до сих пор препятствовало его официальной регистрации [1, 40].

Не остается сомнений, что в ближайшие годы пути лечения ТЭЛА претерпят существенные изменения. Исчезнут различия между первичным и долговременным лечением. Не будет ограничена длительность курса лечения, которая будет определяться только эффективностью препарата для больного, но не его побочным действием. Уже сейчас отсутствие необходимости лабораторного мониторинга увеличивает возможность внебольничного лечения. В перспективе эта тенденция будет прогрессировать. Подлежат также дальнейшему изучению критерии необходимости пролонгирования медикаментозного лечения. Следует более подробно остановиться на современных антикоагулянтах, используемых при лечении ТЭЛА [1, 40].

К средствам, замедляющим первоначальную стадию — инициацию — свертывания крови, относятся такие препараты, как ингибитор пути тканевого фактора рекомбинантный (TFPI), нематодный антикоагулянтный пептид (NAPc2) и фактор VIIa (конвертин) с блокированным активным центром (FVIIai).

К препаратам, ингибирующим распространение процесса свертывания по охваченной им поверхности стенки сосуда и тканей, относятся ингибиторы фактора IXa, прямые ингибиторы фактора Xa (аликсабан, BAY-597939, YM –150, DU -176b), непрямые ингибиторы фактора Ха (фондапаринукс, идрапаринукс, орально вводимые гепарины) и ингибиторы факторов VIII' и V' (протеин С, активированный протеин С, растворимый тромбомодулин).

К прямым ингибиторам тромбиновой активности относятся такие препараты, как гирудин и его производные (бивалирудин), препараты мелагатранового ряда (аргатробан, ксимелагатран, дабигатран) и орально вводимые гепарины [1, 40, 51].

Совершенствование медикаментозной терапии ТЭЛА означает неинвазивное, щадящее и комфортное лечение для больных. В то же время не меньшего внимания заслуживает профилактика этого опасного заболевания, которая чаще всего заключается в предупреждении развития флеботромбоза ног, его ранней диагностике и своевременном лечении, а также в выделении группы риска среди больных [20, 47]. Факторами риска следует считать возраст старше 40 лет, ожирение, выраженную сердечную недостаточность, инфаркт миокарда, инсульт. Кроме того, к таковым относятся оперативные вмешательства на органах брюшной полости, малого таза, грудной клетки и на нижних конечностях, а также ранее перенесенные ТГВ и ТЭЛА [55].

Медикаментозная коррекция системы гемостаза в профилактических целях осуществляется с помощью малых доз гепарина (подкожно по 5000 ЕД каждые 8–12 часов) вплоть до выписки из стационара. При необходимости гепарин продолжают вводить в амбулаторных условиях. Применение гепарина снижает риск нелетальной ТЭЛА на 40%, летальной — на 65%. У больных с высоким риском развития геморрагических осложнений (после операций на головном и спинном мозге) вместо гепарина следует применять ежедневные инфузии реополиглюкина [40].

При высоком риске развития флеботромбоза (оперативные вмешательства, злокачественные опухоли, травма костей, сердечная недостаточность и др.) для профилактики развития ТЭЛА используют низкомолекулярные гепарины [20,40]. При этом доза препарата прямо пропорциональна степени риска. Так, в общей хирургии доза фраксипарина в 75 раз выше, чем в ортопедической хирургии. Как и в случае лечения ТЭЛА, применение низкомолекулярных гепаринов не требует регулярного лабораторного контроля и реже, чем применение стандартного гепарина, сопровождается кровотечениями и тромбоцитопенией.

Другой подход профилактики тромбоза при тромбофилических состояниях, угрожающих развитием ТЭЛА, — это антитромбоцитарная терапия [21–23]. Механизм действия антитромбоцитарных препаратов сводится к подавлению агрегации тромбоцитов, препятствующему формированию тромбоцитарного тромба и, как следствие, стабильного тромба. При критических состояниях, характерных для больных группы риска развития ТЭЛА, это их свойство может эффективно использоваться для профилактики тромбоза.

К группе тромбоцитарных антиагрегантов относится целый ряд препаратов, различающихся по конкретному механизму действия. При состояниях риска развития ТЭЛА, в частности, хирургических вмешательствах, грозящих формированием опасного тромба, наиболее показаны к применению различные формы аспирина (ацетилсалициловой кислоты — АСК) и препараты тиенопиридинового ряда [24, 25]. Главным механизмом действия аспирина (АСК) является ингибирование фермента циклооксигеназы-1, ведущее к нарушению синтеза тромбоксана $A_2$ ($TxA_2$) — одного из главных факторов активации тромбоцитов. В свою очередь, снижение содержания $TxA_2$ тормозит агрегацию тромбоцитов и, тем самым, формирование тромба [26]. Аспирин в различных формах (обычная отечественная АСК, кишечно-растворимые формы, в особенности «ТромбоАСС», а также кардиомагнил) оказывает выраженный ингибирующий эффект на агрегацию тромбоцитов и, как следствие, профилактический эффект в отношении развития ТЭЛА (как первичной, так и рецидивов) [24]. Однако «ТромбоАСС» обладает более выраженным фармакологическим эффектом, а кардиомагнил реже оказывает такое нежелательное побочное действие, как желудочно-кишечные кровотечения [42].

Препараты тиенопиридинового ряда — клопидогрель и его предшественник тиклопидин — обладают несколько иным, нежели ацетилсалициловая кислота, механизмом ингибирующего действия на агрегацию тромбоцитов. Эти препараты являются антагонистами по отношению к АДФ-рецепторам поверхности тромбоцитов. Их ингибирующее действие на тромбоциты необратимо и продолжается в течение всей жизни клеток [26]. Клопидогрель отличается от тиклопидина наличием в структуре молекулы дополнительной карбоксиметильной группы. Он необратимо соединяется с АДФ-рецептором P2Y12, непосредственно задействованным в усилении агрегации и секреции тромбоцитов. Обладая более выраженным антиагрегирующим эффектом, клопидогрель меньше, чем тиклопидин, склонен давать осложнения в виде нейтропении и, тем более, тромботической тромбоцитопенической пурпуры. Эти его преимущества заставляют отдавать ему предпочтение перед тиклопидином и считать его особо перспективным антитромбоцитарным препаратом. Имеет перспективу сочетанное применение аспирина и клопидогреля для первичной и вторичной профилактики у больных с высокой степенью риска при различных тромбофилических состояниях, включая, безусловно, ТЭЛА и риск ее развития [26, 40].

Нельзя не отметить профилактическую роль еще одного подхода — лечения атеротромбоза и стабилизации атеросклеротических бляшек [40]. В этих целях эффективен витаминный комплекс: фолиевая кислота, витамины $B_1$ и $B_{12}$.

Разумеется, эффективность медикаментозной коррекции, как и всякого лечения и профилактики, прежде всего зависит от своевременной и точной диагностики заболевания или предрасположенности к нему. В диагностике ТЭЛА ведущее место занимают инструментальные методы (электрокардиография, рентгенография грудной клетки, эхокардиография, ультразвуковое ангиосканирование вен нижних конечностей, перфузионное сканирование легких, в особо тяжелых случаях — ангиопульмонография [27–29]. Лабораторному тестированию пока что отводится вспомогательная роль. Однако оно также заслуживает внимания по причине относительной безболезненности (в сравнении с наиболее точными инструментальными методами), безопасности и безвредности для больного при относительно высокой специфичности, особенно в перспективе. Не все инструментальные методы отличаются этими качествами.

Главная трудность лабораторной диагностики ТЭЛА и тем более предшествующих ей состояний — недостаток специфических тестов. Например, определение активности какого бы то ни было из сывороточных ферментов не обладает ни достаточной чувствительностью, ни достаточной специфичностью. Триада повышенной активности сывороточной лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и повышенного билирубина при нормальной активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) наблюдается менее чем в 15% случаев ТЭЛА [27]. Повышенная активность ЛДГ наблюдается в 85% случаев осложнения ТЭЛА — инфаркта легкого, но тем не менее этот показатель не специфичен, так как повышенный уровень ЛДГ выявляется при многих других патологических состояниях. Высокое содержание в крови продуктов частичного расщепления фибрина — фибринопептида А и D-димеров — очень характерно для ТЭЛА, но все же недостаточно специфично по причине нередких случаев ложноположительности, а также других случаев повышения уровня D-димеров, например, послеоперационных состояний [27, 36, 55]. Тем не менее, тест обладает бесспорной отрицательной значимостью: нормальный уровень D-димеров лишний раз подтверждает отсутствие необходимости антикоагулянтного лечения [36, 55]. Более того, как приложение к многоканальной компьютерной томографии этот тест приобретает положительную значимость, лишний раз подтверждая диагноз ТЭЛА [29, 30].

Еще одним информативным показателем ТЭЛА или предшествующего ей тромбоза является снижение активности фактора XIII свертывания крови, объясняющееся усиленным потреблением этого фактора в процессе формирования тромба [33, 34]. Снижение содержания А-субъединицы фактора XIII в крови больного до <60% говорит о прямом риске развития ТЭЛА. Повышенная активность ингибитора альфа-1-протеиназы (альфа-1-PI) при ТЭЛА отражает сниженный фибринолитический потенциал плазмы крови и также служит показателем наличия и развития заболевания [37]. Показательны также такие величины, как маркеры активации тромбоцитов (тромбоцитарные микрочастицы, Р-селектин), хемокины и растворимые маркеры (sP-селектин, sE-селектин, sVCAM-1 и CD-14). Эти маркеры отражают не только состояние больного, но и эффективность его лечения. В частности, антитромбоцитарная терапия существенно снижает уровни маркеров активации тромбоцитов [38, 39]. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о постоянном совершенствовании методов лабораторного тестирования ТЭЛА и возрастании его роли в диагностике заболевания [43, 44, 49, 50, 52, 54].

Побочное негативное действие применяющихся ныне антитромботических, антитромбоцитарных и тромболитических препаратов для лечения и профилактики ТЭЛА, частая необходимость лабораторного мониторинга параметров свертывания крови и, в некоторых случаях, неудобство введения препаратов побуждают к новому поиску эффективных и безопасных средств терапии этой патологии. Так, проходят экспериментальные и клинические испытания простаноиды, нитроаспирин, антагонисты GPIIb/IIIa-рецепторов тромбоцитов, тиенопиридиновые производные, контактные блокаторы взаимодействия коллаген-GPVI и фактор Виллебранда-GPIb-IX, прямые ингибиторы тромбина, ингибиторы тромбин-тромбоцитарных взаимодействий, ингибиторы фактора VII и взаимодействия тканевой фактор-фактор VII [41].

Успешное изыскание новых препаратов, а также совершенствование путей их введения и схем лечения уже в ближайшее время должно помочь преодолеть трудности, связанные прежде всего с лечением и вторичной профилактикой ТЭЛА.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Buller H.R., Sohne M., Middeldorp S. Treatment of venous thromboembolism // J. Thromb. Haem. — 2005. — Vol. 3. — P. 1554-1560.*
2. *Turkstra F., Hoopman M.M., Buller H.R. The treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism // Thromb. Haemost. — 1997. — Vol. 78. — P. 489-496.*
3. *Murray G., Best C. Heparin and thrombosis: the present situation // JAMA. — 1938. — Vol. 110. — P. 118-122.*
4. *Barrit D.W., Jordan S.C. Anticoagulant drugs, in the treatment of pulmonary embolism. A controlled trial // Lancet. –1960. — № 1 — P. 1309-1318.*
5. *Basu D., Gallus A., Hirsh J. et al. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time // N. Engl. J. Med. — 1972. — Vol. 287. — P. 324-327.*
6. *Hull R., Delmore T., Carter C et al. Adjusted subcutaneous heparin versus warfarin sodium in the long-term treatment of venous thrombosis // N. Engl. J. Med. — 1982. — Vol. 306. — P. 189-194.*
7. *Hull R., Hirsh J., Jay R. et al. Different intensities of oral anticoagulant therapy in the treatment of proximal-vein*

*thrombosis // N. Engl. J. Med. — 1982. — Vol. 307. — P. 1676-1681.*
8. *Hull R., Bascob G., Rosenbloom D. et al. Heparin for 5 days as compared with 10 days in the initial treatment of proximal venous thrombosis // N. Engl. J. Med. — 1990. — Vol. 322. — P. 1260-1264.*
9. *Gallus A., Jackaman J., Tillett J. et al. Safety and efficacy of warfarin started early after submassive venous thrombosis or pulmonary embolism // Lancet. — 1986. — № 2. — P. 1293-1296.*
10. *Levine M., Gent M., Hirsh J. et al. A comparison of low-molecular-weight heparin administered primarily at home with unfractionated heparin administered in the hospital for proximal deep-vein thrombosis // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 334. — P. 677-681.*
11. *Koopman M.M., Prandoni P., Piovella F. et al. Treatment of venous thrombosis with intravenous unfractionated heparin administered in the hospital as compared with subcutaneous low-molecular-weight heparin administered at home. The Tasman study group // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 334. — P. 682-687.*
12. *Buller H.R., Agnelli G., Hull R.D. et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: the Seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolitic therapy // Chest. — 2004. — Vol. 126. — P. 401-428.*
13. *Van den Belt A.G., Prins M.H., Lensing A.W. et al. Fixed dose subcutaneous low molecular weight heparins versus adjusted dose unfractionated heparin for venous thromboembolism // Cochrane Database Syst. Rev. — 2000. — CD001100.*
14. *Quinlan D.J., McQuillan A., Eikelboom J.W. Low-molecular-weight heparin compared with intravenous unfractionated heparin for treatment of pulmonary embolism: a meta-analysis of randomized, controlled trials // Ann. Intern. Med. — 2004. — Vol. 140. — P. 175-183.*
15. *Buller H.R., Davidson B.L., Decousus H et al. Fondaparinux or enoxaparin for the initial treatment of symptomatic deep venous thrombosis: a randomized trial // Ann. Intern. Med. — 2004. — Vol. 140. — P. 867-873.*
16. *Buller H.R., Davidson B.L., Decousus H et al. Subcutaneous fondaparinux versus intravenous unfractionated heparin in the initial treatment of pulmonary embolism // N. Eng. J. Med. — 2003. — Vol. 349. — P. 1695-1702.*
17. *Wan S., Quinlan D.J., Agnelli G et al. Thrombosis compared with heparin for the initial treatment of pulmonary embolism: a meta-analysis of the randomized controlled trials // Circulation. — 2004. — Vol. 110. — P. 744-749.*
18. *Lee A.Y., Levine M.N., Baker R.I. et al. Low-molecular-weight heparin versus a coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer // N. Eng. J. Med. — 2003. — Vol. 349. — P. 146-153.*
19. *Hull R., Pinco G.F., Mah A. A randomized trial evaluating long-term low-molecular-weight heparin therapy for three months versus intravenous heparin followed by warfarin sodium in patients with current cancer // Thromb. Haemost. — 2003. — Abstract. — P 137a.*
20. *Kearon C., Salzman E.W., Hirsh J. Epidemiology, pathogenesis and natural history of venous thrombosis // In: Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J. et al. eds. Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. 4th edition / Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001. — P. 1153-1178.*
21. *Баркаган З.С. Мониторинг эффектов антитромботических средств — необходимое условие их рационального применения в клинической практике // В кн: I Всеросс. научн. конф. «Клиническая гемостазиология в сердечно-сосудистой хирургии». — М., 2003. — С. 9-12.*
22. *Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. — М.: Ньюдиамед, 2000. — 148 с.*
23. *Баркаган З.С. Современная антитромботическая профилактика и терапия // В кн: Фармакотерапия заболеваний сердечно-сосудистой системы. Лекции для практических врачей. VIII национальный конгресс «Человек и лекарство». — М., 2002. — С. 142-153.*
24. *Patrano C., Caller B., Dalen J.E. et al. Platelet active drugs. The relationship among dose, effectiveness and side effects // Chest. — 2001. — Vol. 119. — № 1, Suppl. — P. 39-63.*
25. *Баркаган З.С., Котовщикова Е.Ф., Костюченко Г.И. К вопросу о частоте сочетаний гиперагрегации тромбоцитов и гипергомоцистеинемии при тромбоишемических процессах // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2004. — № 3. — С. 36-41.*
26. *Баркаган З.С. Место антитромбоцитарных средств в комплексной профилактике и терапии атеротромбоза // Сибирская научно-практическая конференция по актуальным вопросам фармакотерапии. — Новосибирск, 1999. — С. 7-22.*
27. *Greets W.H., Heit J.A., Clagett G.P. et al. Prevention of venous thromboembolism // Chest. — 2001. — Vol. 119, Suppl. — P. 132S-175S.*
28. *Wolde M., Sohne M., Quak E. et al. Prognostic value of echocardiographically assessed right ventricular dysfunction in patients with pulmonary embolism // Arch. Intern. Med. — 2004. — Vol. 164. — P. 1685-1689.*
29. *Schellong S.M., Schwartz T., Kropp J. et al. Bed rest in deep vein thrombosis and the incidence of scintigraphic pulmonary embolism // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 82. — P. 27-29.*
30. *Perrier A., Roy P.M., Sanchez O. et al. Multidetector-row*

*computed tomography in suspected pulmonary embolism // N. Engl. J. Med. — 2005. — Vol. 352, № 17. — P. 1760-1768.*

31. *Feied C.F. Pulmonary embolism // In: Rosen and Barkin, eds. Emergency medicine principles and practice. 4th ed. — 1998. — Vol. 3. — Ch 111.*
32. *Schutgens R.E., Esseboom E.U., Snijder R.J. et al. Low molecular weight heparin (dalteparin) is equally effective as unfractionated heparin in reducing coagulation activity and perfusion abnormalities during the early treatment of pulmonary embolism // J. Lab. Clin. Med. — 2004. — Vol. 144, № 2. — P. 100-107.*
33. *Kucher N., Schroeder V., Kohler H.P. Role of blood coagulation factor XIII in patients with acute pulmonary embolism. Correlation of factor XIII antigen levels with pulmonary occlusion rate, fibrinogen, D-dimer, and clot firmness // Thromb. Haemost. — 2003. — Vol. 90, № 3. — P. 434-438.*
34. *Tapson V.F. The role of smoking in coagulation and thromboembolism in chronic obstructive pulmonary disease // Proc. Am. Thorac. Soc. — 2005. — Vol. 2, № 1. — P. 71-77.*
35. *Eichinger S., Weltermann A., Minar E. et al. Symptomatic pulmonary embolism and the risk of recurrent venous thromboembolism // Arch. Intern. Med. — 2004. — Vol. 164. — P. 92-96.*
36. *Miyahara Y., Ikeda S., Kohne S. Haemostatic molecular markers // Nippon Rinsho. — 2003. — Vol. 61, № 10. — P. 1726-1730.*
37. *Gombas J., Koley K., Tarian E. et al. Impaired fibrinolitic potential related to elevated alpha–1-protease inhibitor levels in patients with pulmonary thromboembolism // Ann. Hematol. — 2004. — Vol. 83, № 12. — P. 759-763.*
38. *Inami N., Nomura S., Kikuchi H. et al. P-selectin and platelet-derived microparticles associated with monocyte activation markers in patients with pulmonary embolism // Clin. Appl. Thromb. Hemost. — 2003. — Vol. 9, № 4. — P. 309-316.*
39. *Chirinos J.A., Heresi G.A., Velasquez H. et al. Elevation of endothelial microparticles, platelets, and leucocyte activation in patients with venous thromboembolism // J. Am. Coll. Cardiol. — 2005. — Vol. 95, № 9. — P. 1472-1473.*
40. *Баркаган З.С. Пути совершенствования и пролонгации антитромботической профилактики и терапии // Гематол. и трансфузиол. — 2005. — № 4. — С. 3-10.*
41. *Labuzek K., Krysiak R., Okopien B. et al. Progress in pharmacotherapy of thrombosis // Pol. J. Pharmacol. — 2003. — Vol. 55, № 4. — P. 523-533.*
42. *Баркаган З.С., Котовщикова Е.Ф. Сравнительные данные об антиагрегационном и побочном действии различных аспиринов при тромбоишемических процессах // Пробл. гематол. — 2004. — № 5. — С. 5-8.*
43. *He L., Pappan L.K., Grenache D.G. et al. The contributions of the alpha 2 beta 1 integrin to vascular thrombosis in vivo // Blood. — 2003. — Vol. 102, № 10. — P. 3652-3657.*
44. *Uckun F.M., Vassilev A., Bartell S. et al. The anti-leukemic Bruton’s tyrosine kinase inhibitor alpha-cyano-beta-hydroxy-beta-methyl-N-(2,5-dibromophenyl)propenamide (LFM-A13) prevents fatal thromboembolism // Leuk. Lymphoma. — 2003. — Vol. 49, № 9. — P. 1569-1577.*
45. *Thrombolysis in submassive pulmonary embolism // J. Thromb. Haemost. — 2004. — Vol. 2, № 8. — P. 1473-1474. — Discussion.*
46. *Bartholomew J.R. Transition to an oral anticoagulant in patients with heparin-induced thrombocytopenia // Chest. — 2005. — Vol. 127 (2 suppl.) — P. 27S-34S.*
47. *Epstein N.E. A review of the risks and benefits of differing prophylaxis regimens for the treatment of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in neurosurgery // Surg. Neurol. — 2005. — Vol. 64, № 4. — P. 295-301.*
48. *Betrosian A.P., Theodossiades G., Lambroulis G. et al. Heparin-induced thrombocytopenia with pulmonary embolism and disseminated intravascular coagulation associated with low-molecular-weight heparin // Am. J. Med. Sci. — 2003. — Vol. 325, № 1. — P. 45-47.*
49. *Shu E., Matsuno H., Ishisaki A. et al. Lack of plasminogen activator inhibitor-1 enhances the preventive effect of DX-9065a, a selective factor Xa inhibitor, on venous thrombus and acute pulmonary embolism in mice // Pathophysiol. Haemost. Thromb. — 2004. — Vol. 33, № 4 — P. 206-213.*
50. *Karwat K., Kosciuch J., Chazan R. Is microembolism present and is it important element of COPD exacerbation? // Pol. Merkuriusz Lek. — 2005. — Vol. 18. — P. 385-388.*
51. *Rubens F.D., Lavalee G., Ruel M.A. et al. Delayed thrombin generation with hirudin anticoagulation during prolonged cardiopulmonary bypass // Ann. Thorac. Surg. — 2005. — Vol. 79, № 1. — P. 334-336.*
52. *Jennings J., Cooper P. Screening for the thrombophilia: a laboratory perspective // Br. J. Biomed. Sci. — 2003. — Vol. 60, № 1. — P. 39-51.*
53. *Ji Y., Zhang Z., Zhang P. Thrombosis and its significance after experimental pulmonary thromboembolism // Chin. Med. J. (Engl.) — 2003. — Vol. 116, № 1. — P. 49-52.*
54. *Sakamaki F., Kyotoni S., Nagaya N. et al. Increase in thrombomodulin concentrations after pulmonary thromboendarterectomy in chronic thromboembolic pulmonary hypertension // Chest. — 2003. — Vol. 124, № 4. — P. 1305-1311.*
55. *Hirsh J. Prevention of venous thromboembolism in major ortopedic surgery. — Hamilton, London : BC Decker Inc., 2004.*

# НАСЛЕДСТВЕННАЯ ТРОМБОФИЛИЯ КАК ПОЛИГЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ

*С.И. Капустин*

*Федеральное государственное учреждение «Российский ордена Трудового Красного Знамени, ордена Дружбы народов научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Санкт-Петербург*

# INHERITED THROMBOPHILIA AS A POLYGENIC DISEASE

*S.I. Kapustin*

*Research Institute of haematology and transfusiology, St. Petersberg*

There is a rapidly growing literature on individual tendency to develop thrombosis, or thrombophilia. The established causes of genetically determined, or inherited, thrombophilia, which includes the deficiencies of natural anticoagulants, factor V G1691A (FV Leiden) and prothrombin G20210A gene mutations, altogether affect 5%-15% of Caucasian population and represent significant risk factors for venous thromboembolism (VT) and recurrent pregnancy loss. However, these defects could be identified in less than a half of VT cases and much rarely — in patients with arterial thrombosis. On the other hand, a number of DNA polymorphisms have been described, which can influence the functional properties of haemostatic components or other physiological systems involved in the development of thrombosis. Investigation of these polymorphisms seems to be of a great importance for further characteristic of polygenic nature of susceptibility to thrombosis-related disorders. The establishment of gene-gene and gene-environmental interactions increasing thrombosis risk is of particular value for understanding the molecular mechanisms of this pathology. Here, we summarize the data for the most known to date functional variations in haemostatic and other genes, which, at least theoretically, can attenuate an individual prothrombotic potential.

***Key words:*** *thrombosis — thrombophilia — gene — polymorphism — risk factor.*

Несмотря на значительные успехи современной медицины, тромбоэмболические заболевания (ТЭЗ) по-прежнему представляют глобальную медико-социальную проблему, являясь основной причиной смертности и инвалидизации в индустриально развитых странах. По оценке экспертов, каждый десятый житель Земли в течение жизни испытывает такие серьезные последствия тромботических процессов, как острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт, тромбоз глубоких вен, тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), облитерирующий атеросклероз нижних конечностей и другие клинические проявления венозного и артериального тромбоза [1]. Внезапность и чрезвычайно высокая скорость развития патологического процесса являются, пожалуй, основными причинами, не позволяющими в значительной части случаев эффективно предотвращать тяжелые последствия тромбоза. В связи с этим, одним из наиболее перспективных способов борьбы с ТЭЗ представляется своевременное принятие профилактических мер у лиц с повышенным риском их развития. На основании многочисленных эпидемиологических исследований установлен целый ряд ставших уже классическими факторов риска как венозного, так и артериального тромбоза, что во многом способствовало снижению частоты ТЭЗ в общей популяции. Между тем, в значительной части случаев тромботические эпизоды по-прежнему характеризуются как идиопатические. Это свидетельствует о необходимости дальнейшего совершенствования подходов к профилактие тромботических осложнений, в частности, выделению более четких групп риска их развития.

Исследования последних лет существенно расширили наши представления о патогенезе ТЭЗ. В том числе, это касается такой фундаментальной составляющей эндогенного риска заболевания, как генетическая предрасположенность. Еще в середине XX-го века на основании клинических наблюдений семейных случаев венозного тромбоза (ВТ) в зарубежной литературе появился термин “inherited thrombophilia” — «наследственная тромбофилия» (НТ), с помощью которого авторы указывали на тот факт, что склонность к тромбозу может передаваться по наследству, т.е. являться генетически опосредованной. Функциональные методы диагностики нарушений системы гемостаза впервые позволили обнаружить такие аномалии, характерные для семейных случаев ВТ, как дефицит естественных антикоагулянтов, дисплазминогенемия, дисфибриногенемия, дефицит гепарин-кофактора II [2]. Однако отсутствие прямых методов идентификации генетических дефектов зачастую не позволяло с уверенностью говорить о наследственном характере тромбофилии в том или ином клиническом случае. Более того, низкая частота встречаемости указанных состояний даже среди больных с тромбозами косвенным образом свидетельствовала о существовании иных причин повышенной склонности индивида к развитию тромботических осложнений. Таким образом, вопрос об истинной распространенности различных форм НТ в общей популяции, их роли в патогенезе ТЭЗ и целесообразности выявления в широкой клинической практике долгое время оставался открытым.

Лишь к середине 90-х годов XX века, когда в область лабораторной диагностики стремительно ворвались методы молекулярного анализа ДНК, появилась реальная возможность объективно оценить вклад различных генетических факторов в формирование индивидуальной предрасположенности к тромбозу. Именно в это время были выявлены мутации G1691A в гене V фактора свертывания (FV Leiden), G20210A в гене протромбина и C677T в гене метилентетрагидрофолат редуктазы (МТГФР), которые сегодня изучаются наиболее интенсивно в связи с феноменом НТ. В результате многочисленных исследований установлено, что носительство дефекта гена фактора V или/и протромбина является наиболее частой причиной НТ у лиц европеоидной расы, а мутация C677T в гене МТГФР служит важной предпосылкой развития гипергомоцистеинемии — состояния, характеризующегося повышенным риском развития атеросклероза и тромбоза. Ввиду достаточно большого количества научных работ, в том числе и прекрасно систематизированных обзоров, посвященных роли этих трех дефектов в формировании тромбофилического статуса [2, 3], мы позволим себе опустить подробное рассмотрение указанных генетических аномалий в данной статье. Отметим лишь, что, несмотря на безусловную научную и клиническую ценность обнаружения мутаций в генах факторов V, II и МТГФР, даже с их помощью молекулярная причина НТ может быть установлена сегодня менее чем у половины больных ВТ и еще реже — у пациентов с артериальной патологией [3].

Дальнейшее углубление наших знаний о причинах формирования наследственных тромбофилических состояний может быть достигнуто на основе существующей на сегодняшний день концепции о полигенном характере предрасположенности к тромбозу, которая постулирует наличие в подавляющем большинстве случаев ТЭЗ не одного, а нескольких генетических дефектов, независимо или синергично модифицирующих риск развития заболевания [4]. В этой связи, поиск новых потенциальных детерминант НТ, анализ их комбинаций и взаимосвязей с уже известными экзогенными и эндогенными факторами риска представляются важными задачами современной фундаментальной и клинической гемостазиологии. К настоящему времени расшифрована структура генов практически всех компонентов системы гемостаза, а также иных физиологических систем, участвующих в регуляции функциональной активности сосудистого эндотелия и поддержании жидкого состояния крови. Как и остальным генам человека, большинству из них присуще явление «аллельного полиморфизма», т.е. наличие в популяции не менее двух изоформ, отличающихся нуклеотидной последовательностью ДНК. Включение того или иного полиморфного генетического варианта в группу потенциальных детерминант полигенной НТ возможно при соблюдении нескольких важных условий. Во-первых, белковый продукт гена должен быть задействован в патогенетическом механизме тромбоза. Во-вторых, в эксперименте *in vivo* или *in vitro* должна быть установлена функциональная значимость аллельного полиморфизма, т.е. его способность оказывать влияние на количественные или качественные характеристики кодируемого белка. Наконец, результаты ассоциативных исследований должны свидетельствовать о возможной роли полиморфизма как фактора риска венозного или/и артериального тромбоза. В настоящее время известно несколько десятков генетических вариантов, удовлетворяющих перечисленным выше требованиям [5]. В данной работе приведена краткая характеристика некоторых полиморфизмов ДНК, наиболее часто упоминающихся в литературе в качестве возможных маркеров индивидуальной предрасположенности к ТЭЗ.

## Генетический полиморфизм компонентов плазменного звена гемостаза

### *Полиморфизм в гене β-субъединицы фибриногена (фактор I G–455A)*

Ключевая роль фибриногена в процессе тромбообразования обусловила интенсивный поиск изменений, способных стать маркерами предрасположенности к тромбозу, в генах, кодирующих различные субъединицы этой макромолекулы. Мутации, приводящие к дисфибриногенемии вследствие серьезных структурных изменений молекулы фибриногена, обнаруживаются крайне редко в общей популяции, и их диагностика вряд ли является целесообразной при скрининговом анализе НТ. Наряду с этим, известен ряд широко распространенных полиморфизмов ДНК, которые ассоциированы с изменением количественных либо качественных характеристик отдельных полипептидных цепей фибриногена и, как следствие, всей молекулы в целом [6]. Особый интерес представляет замена G–455A в 5'-нетранслируемой области гена β-субъединицы фактора I. В ряде исследований было продемонстрировано, что этот полиморфизм является независимым предиктором уровня фибриногена, что связано с повышенной конститутивной экспрессией аллеля–455A [6, 7]. Более того, данный генетический вариант в большей степени, по сравнению с аллелем–455G, подвержен активации под действием интерлейкина-6 и, возможно, других медиаторов иммунного ответа [7].

Гомозиготное состояние по аллелю–455A обнаруживается у 3–20% лиц европеоидной расы и ассоциировано с увеличением как базального (на 10–30%), так и индуцированного уровней фибриногена, по сравнению с «нормальным» генотипом «–455GG» [6, 7]. При гетерозиготном носительстве этого генетического варианта концентрации фактора I имеют промежуточные значения. Основная часть исследований посвящена изучению роли полиморфизма «β-фибриноген G–455A» в развитии артериального тромбоза. Некоторыми авторами показано, что носительство аллеля–455A является фактором риска периферического и коронарного атеротромбоза, а также ассоциировано со степенью атеросклеротического поражения сосудов [6, 8]. Влияние указанного полиморфизма на риск развития венозной патологии изучено в меньшей степени, хотя предварительные данные позволяют сделать предположение о неблагоприятном прогнозе ТЭЛА у носителей аллеля–455A, особенно в гомозиготном состоянии [9].

### *Полиморфизм в гене ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1 –675 4G/5G)*

Снижение активности фибринолитической системы является характерным признаком большинства тромботических осложнений. В связи с этим, определение генетических детерминант фибринолитического потенциала является важным шагом при установлении молекулярных основ НТ. Наиболее серьезной наследственной аномалией фибринолитической системы является дефект плазминогена, приводящий к неспособности образования активной формы — плазмина, либо значительному снижению его активности. Однако дисплазминогенемия встречается очень редко и ее скрининг с помощью молекулярных методов не является оправданным. Наиболее же частой причиной уменьшения фибринолитического потенциала является недостаточно эффективная конвертация плазминогена в плазмин, обусловленная снижением активности тканевого или/и урокиназного активаторов плазминогена. Данный феномен может быть связан как с наследственными факторами, так и с различными приобретенными состояниями, а чаще всего обусловлен взаимодействием этих двух составляющих [10].

В последнее время большое внимание уделяется роли ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1) в снижении фибринолитического потенциала индивида. Повышение уровня PAI-1 не только является частым наблюдением при тромбозах, но также имеет в ряде случаев прогностическое значение. Важной генетической детерминантой уровня PAI-1 является полиморфизм «4G/5G» в 5'-нетранслируемой области гена, который связан с инсерцией, либо, напротив, делецией одного нуклеотида (гуанина) в позиции –675. В эксперименте *in vitro* было показано, что аллели «4G» и «5G» не только характеризуются различным базальным уровнем экспрессии PAI-1 (у гомозигот «4G/4G» он на 25-30% больше, чем у носителей аллеля «5G»), но и по-разному отвечают на стимуляцию интерлейкином-1 [11]. Хотя механизмы регуляции экспрессии гена PAI-1 и роль полиморфизма «4G/5G» в этом процессе изучены недостаточно, некоторые авторы показали, что данный дефект может существенно влиять на уровень PAI-1 у лиц с такими факторами риска атеротромбоза, как курение, гипертония, гипертриглицеридемия [10]. Сложный характер взаимоотношений генетической детерминанты с приобретенными факторами риска свидетельствует о важности определения уровня PAI-1 в плазме наряду с проведением молекулярно-генетического тестирования полиморфизма «–675 4G/5G».

*Полиморфизм в гене фактора XII свертывания крови (FXII C46T)*

Биологическая роль фактора XII свертывания крови (фактора Хагемана) пока изучена недостаточно. Известно, что его активированная форма является сериновой протеазой и обладает целым рядом функциональных активностей. С одной стороны, при участии фактора Хагемана происходит активация коагуляционного фактора XI, приводящая к инициации внутреннего пути свертывания крови. С другой стороны, одним из субстратов фактора Хагемана является плазминоген, конверсия которого в плазмин приводит к увеличению фибринолитического потенциала. Кроме того, фактор XII принимает участие в образовании брадикинина, функционировании системы комплемента, а также является лигандом тромбоцитарного рецептора GpIb/IX/V [12, 13]. Дефицит фактора Хагемана обнаруживается у 1–3% лиц европеоидной расы [14]. Большинство исследователей относит данный фенотип к числу протромботических нарушений гемостаза, отмечая при этом повышенный риск развития как артериальных, так и венозных тромбозов [15]. В то же время, *Kohler et al* обнаружили положительную ассоциацию между уровнем активированной формы фактора XII и степенью атеросклеротического поражения коронарных сосудов у лиц, перенесших инфаркт миокарда [16].

Значительная вариабельность плазменного уровня фактора Хагемана у разных индивидов объясняется, в том числе, и генетическими особенностями. В 1998 году *Kanaji et al* обнаружили полиморфизм C46T в гене фактора XII, который затрагивает консенсус-последовательность «Kozak», определяющую эффективность процесса трансляции матричной РНК [12]. Функциональная значимость этой нуклеотидной замены была подтверждена в ряде исследований, показавших четкую зависимость уровня и активности фактора Хагемана от числа аллелей 46T в генотипе [14, 17]. Максимальные значения наблюдались у гомозиготных носителей аллеля 46C, тогда как у лиц с генотипом 46TT средние показатели уровня и активности фактора Хагемана были существенно ниже. По результатам проведенных к настоящему времени исследований, генотип 46TT обнаруживается у 5–10% населения различных европейских стран, что в несколько раз превышает частоту встречаемости дефицита фактора XII в этих популяционных группах [14, 17]. По-видимому, данное различие объясняется наличием как внешних, так и иных генетических факторов, влияющих на уровень или/и активность фактора Хагемана в плазме. Подтверждением этому могут служить неудачные попытки установить прямой протромботический эффект полиморфизма C46T в некоторых исследованиях [14].

*Полиморфизм в гене А-субъединицы фактора XIII свертывания крови (FXIII G163T, Val34Leu)*

Основная функция фактора XIII заключается в формировании и стабилизации фибринового сгустка благодаря трансглутаминазной активности, позволяющей образовывать ковалентные связи между мономерами фибрина [18]. А-субъединица фактора XIII содержит активный сайт данной каталитической реакции, тогда как В-субъединица блокирует эту ферментативную активность. Таким образом, трансглутаминазной функцией обладает только активная форма фактора XIII (фактор XIIIa), которая образуется на последней стадии коагуляционного каскада путем частичного протеолиза А-субъединицы под действием тромбина с высвобождением «пептида активации» (AP — activation peptide), состоящего из 37 аминокислот, и последующей диссоциацией В-субъединицы. Важным кофактором активации фактора XIII являются полимеры фибрина. В плазме проферментная форма фактора XIII циркулирует в виде тетрамера A2B2, тогда как в тромбоцитах она находится в виде димера A2. Благодаря отсутствию В-субъединицы, тромбоцитарная форма фактора XIII, содержащая 50% общей трансглутаминазной активности данного прокоагулянта, активируется под действием тромбина значительно быстрее, чем плазменная составляющая. Показано, что тромбоцит-ассоциированная форма фактора XIII является маркером активации тромбоцитов и способствует увеличению их прокоагулянтных свойств [19].

Помимо редких мутаций, вызывающих дефицит фактора XIII и развитие геморрагий, описан ряд генетических полиморфизмов, способных оказывать влияние на функцию этого белка. Наибольший интерес представляет нуклеотидная замена G163T в гене А-субъединицы фактора XIII, которая приводит к замещению валина на лейцин в позиции 34 (Val34Leu), расположенной в непосредственной близости от «пептида активации». Показано, что гомозиготная форма Leu34Leu фактора XIII активируется под действием меньших доз тромбина и с более высокой скоростью, чем «нормальная» форма прокоагулянта (Val34Val) [20]. Таким образом, этот полиморфизм может оказывать влияние на кинетику образования и структуру фибринового сгустка, а, следовательно, устойчивость к фибринолизу. Это предположение подтверждается данными тромбоэластографии и электронной микроскопии [20, 21]. Результаты немногочисленных ассоциативных исследований пока не позволяют сделать однозначный вывод о роли полиморфизма Val34Leu фактора XIII в развитии тромботических заболеваний. Интересно, что большинство авторов указывает на возможное протективное действие варианта Leu34 как для артериальных, так и для венозных тромбозов. Однако это мнение противоречит тому факту, что высокая трансглутаминазная активность фактора XIII часто обнаруживается у пациентов с острым инфарктом миокарда [22].

## Генетический полиморфизм компонентов тромбоцитарного звена гемостаза

### *Полиморфизм в гене гликопротеина IIIa (GpIIIa T1565C, HPA-1, PlA1/A2)*

Наряду с генетическими нарушениями компонентов плазменного звена гемостаза, в последние годы интенсивно изучаются молекулярные маркеры, ассоциированные с изменением функциональной активности тромбоцитов. Прежде всего, это относится к полиморфизму генов, кодирующих различные субъединицы тромбоцитарных рецепторов. Особое внимание уделяется «классическому» рецептору фибриногена — комплексу GpIIb/IIIa, который опосредует агрегацию активных форм тромбоцитов и, таким образом, не только представляет интерес с точки зрения установления молекулярных механизмов патогенеза тромботических осложнений, но и является привлекательной мишенью для проведения антиагрегантной терапии. Гены, кодирующие субъединицы GpIIb и GpIIIa, обладают значительным полиморфизмом, однако в большинстве случаев эти изменения не влияют на функциональные свойства рецептора [23]. Основная часть исследований посвящена изучению замены T1565C в гене GpIIIa, которая была открыта благодаря ее способности влиять на иммуногенные свойства тромбоцитов. В связи с этим, данный полиморфизм в литературе также обозначается как «HPA-1» (human platelet antigen 1), или PlA1/A2. Мутация T1565C приводит к замене лейцина на пролин в позиции 33 аминокислотной последовательности GpIIIa, которая расположена в непосредственной близости от сайта связывания рецептора GpIIb/IIIa с лигандом — фибриногеном. Предполагают, что полиморфизм PlA1/A2 может оказывать влияние на аффинность данного взаимодействия и агрегационные свойства тромбоцитов [23].

Носительство аллеля 1565C гена GpIIIa выявляется в различных европейских популяциях с частотой 15–35% [5]. Первоначально данный генетический вариант был описан как фактор риска ишемической болезни сердца, однако результаты большинства последующих исследований, в том числе и проспективных, поставили под сомнение патогенетическую роль полиморфизма PlA1/A2 в развитии артериальной патологии [24]. Тем не менее, некоторыми авторами была выявлена ассоциация между носительством аллеля 1565C и степенью атеросклеротического поражения коронарных артерий, а также неблагоприятным прогнозом при остром инфаркте миокарда [25]. Данные о роли полиморфизма гена GpIIIa в патогенезе венозного тромбоза остаются противоречивыми [5, 24]. По-видимому, риск развития ТЭЗ в случае носительства этого протромботического варианта в значительной степени модифицируется целым рядом других факторов, таких как курение, уровень фибриногена, а также наличием иных генетических полиморфизмов [5, 23].

### *Полиморфизм в гене гликопротеина Ibα (GpIbα C434T)*

Ген GpIbα кодирует α-субъединицу гликопротеина Ib, который в комплексе с GpV и GpIX образует уникальный тромбоцитарный рецептор GpIb/IX/V, основным лигандом которого является фактор Виллебранда (vWF). Аффинность данной связи во многом зависит от конформации vWF и скорости сдвига кровяного потока [26]. Наиболее значимым является взаимодействие рецептора GpIb/IX/V с иммобилизованным vWF в условиях высокой скорости сдвига. В связи с этим предполагают, что данный механизм лежит в основе инициации адгезии тромбоцитов к поврежденной стенке артериальных сосудов и, следовательно, может быть важным звеном в формировании артериального тромбоза [13]. К настоящему времени описано три различных полиморфизма гена GpIbα [23]. Первый из них заключается в различном числе тандемных повторов (VNTR — variable number of tandem repeats) из 39 пар нуклеотидов (п.н.), которые кодируют последовательность 13-ти аминокислот, входящих в состав N-концевого участка GpIbα (так называемого муциноподобного макрогликопептида). Идентифицировано 4 аллеля VNTR (A, B, C, D), включающих 4, 3, 2 и 1 повтор из 39 п.н., соответственно. Результатом этого полиморфизма является возможность образования 4-х изоформ гликопротеина Ibα с различной молекулярной массой. Нуклеотидная замена тимидина на цитозин вблизи начала старта транскрипции гена GpIbα (T–5C) составляет молекулярную основу второй полиморфной системы этого гликопротеина. Данная позиция затрагивает консенсус-последовательность «Kozak», определяющую эффективность процесса трансляции матричной РНК. Как следствие, у носителей аллеля «–5C» уровень синтезируемого GpIbα, а также его плотность на тромбоцитарной мембране оказываются выше, чем у лиц, не содержащих в генотипе данного варианта. Наконец, полиморфизм C434T в кодирующей части GpIbα приводит к аминокислотной замене треонина на метионин в позиции 145 этого полипептида (Thr145Met). Как и в случае полиморфизма T1565C в гене GpIIIa, данная замена приводит к изменению иммуногенных свойств гликопротеина и является основой аллоантигенной системы тромбоцитов «HPA-2». Поскольку указанная аминокислотная позиция находится в непосредственной близости от сайта связывания GpIbα с фактором Виллебранда, а также высокоаффинного сайта связывания с тромбином, полагают, что полиморфизм C434T способен оказывать влияние на функциональные свойства рецептора GpIb/IX/V [27]. Между тремя рассмотренными полиморфизмами гена GpIbα существует тесная сцепленность, поэтому их различные сочетания представлены в виде лишь четырех гаплотипов, один из которых (содержащий аллель VNTR «A») крайне редко встречается у лиц европеоидной расы [23].

В различных европейских популяциях носительство аллеля «434T» (HPA-2b) наблюдается у 10-15% жителей [27]. В некоторых исследованиях показано, что этот генетический вариант ассоциирован с риском развития острого инфаркта миокарда и ишемического инсульта, особенно у лиц молодого возраста или/и с положительным семейным анамнезом артериального тромбоза [27]. В то же время по данным Gonzalez-Conejero et al, распределение аллелей полиморфизма C434T среди больных венозным тромбозом не отличается существенным образом от такового в здоровой популяции [27]. В целом нужно отметить, что исследования, посвященные анализу встречаемости генетических вариантов GpIbα у лиц с различными клиническими проявлениями артериального и венозного тромбоза, пока являются единичными и не позволяют делать окончательные выводы о роли этого полиморфизма в патогенезе ТЭЗ.

### *Полиморфизм в гене гликопротеина Ia (GpIa C807T)*

Гликопротеин Ia является α2-субъединицей семейства интегринов и входит в состав рецептора GpIa/IIa (VLA-2, very late activation antigen-2), который экспрессируется на тромбоцитах, фибробластах, активированных T-лимфоцитах, эндотелиальных, а также различных эпителиальных клетках [28]. Тромбоцитарный комплекс GpIa/IIa — основной рецептор коллагена, который, в свою очередь, является наиболее тромбогенным компонентом субэндотелиального матрикса [28]. Взаимодействие GpIa/IIa с коллагеном в месте повреждения сосудистой стенки инициирует первичную адгезию тромбоцитов и сопровождается целым рядом реакций, обеспечивающих дальнейшую активацию кровяных пластинок с высвобождением содержимого гранул и последующей агрегацией. Эксперименты *in vitro* показали, что данный механизм активации тромбоцитарного звена гемостаза имеет место в условиях как низких, так и высоких скоростей сдвига кровяного потока [26]. Это во многом объясняет существующий в настоящее время интерес к изучению роли рецептора GpIa/IIa в развитии тромбоза сосудов различного калибра и локализации.

В 1993 году *Kunicki et al* продемонстрировали, что, в отличие от большинства других рецепторов семейства интегринов, плотность GpIa/IIa на тромбоцитарной мембране у различных индивидов варьирует в значительных пределах [29]. Молекулярный анализ гена GpIa обнаружил 8 тесно сцепленных между собой полиморфизмов, которые определяют наличие трех различных аллелей [30]. Исследование функциональных особенностей у носителей этих вариантов выявило зависимость между плотностью рецептора GpIa/IIa на плазматической мембране тромбоцитов и полиморфизмом GpIa C807T. Данная нуклеотидная замена, хотя и находится в кодирующей части гена, является «молчащей», т.е. не приводит к изменению аминокислотной последовательности белка. Возможно, она сцеплена с неизвестным пока полиморфизмом, влияющим на уровень экспрессии гена GpIa. Среди лиц европеоидной расы частота аллеля 807T составляет около 40% [31]. В ряде работ было показано, что гомозиготное носительство аллеля 807T ассоциировано с развитием в молодом возрасте таких ТЭЗ, как острый инфаркт миокарда и ишемический инсульт [32, 33]. Высказывается мнение о возможности синергичного взаимодействия этого генотипа с такими факторами, как курение и носительство аллеля 1565C гена GpIIIa, в увеличении риска развития тромботических проявлений [32]. В то же время *Corral et al* не выявили достоверных различий в распределении аллелей полиморфизма C807T у больных с венозными и артериальными тромбозами по сравнению со здоровыми лицами [31].

### Генетический полиморфизм компонентов ренин-ангиотензиновой системы

*Полиморфизм в гене ангиотензиногена (T704C, Met235Thr)*

Ренин-ангиотензиновая система (РАС) играет важнейшую роль в регуляции артериального давления и водно-солевого баланса организма и является одной из физиологических систем, вовлеченных в патогенез эндотелиальной дисфункции. Первичным звеном РАС является ангиотензиноген (АГ), который синтезируется клетками печени и под действием ренина превращается в декапептид ангиотензин I. Последний, в свою очередь, представляет субстрат для ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и конвертируется в свою активную форму — октапептид ангиотензин II (АТ II). Именно АТ II является основным эффекторным пептидом РАС, стимулирующим молекулярные механизмы вазоконстрикции, высвобождения альдостерона и вазопрессина, а также обеспечивающим регуляцию транспорта ионов $Na^+$ через почечные канальцы [34]. Повышенная активация РАС является фактором риска развития артериальной гипертензии и ее осложнений — сердечно-сосудистых заболеваний, сосудистых заболеваний головного мозга и почек, иных ангиопатий [35]. Установлено и прямое протромботическое воздействие АТ II на систему гемостаза — он стимулирует продукцию эндотелиальными клетками ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1), что, в свою очередь, приводит к снижению фибринолитической активности [36]. Кроме того, патологический эффект АТ II у лиц с нормальным артериальным давлением может быть обусловлен гиперактивацией «локальных РАС», регуляция которых в пределах определенных органов и тканей происходит посредством пара- и аутокринных механизмов [35]. В частности, стимуляция роста и пролиферации гладкомышечных клеток, а также формирования межклеточного матрикса под действием локальной РАС является важным звеном ангиогенеза и, в то же время, может стать причиной патологических изменений сосудистой стенки.

Одной из причин повышенной активности РАС может являться увеличение продукции ее первичного субстрата — ангиотензиногена. Высокая вероятность генетической детерминированности такого увеличения была подтверждена в ряде исследований, обнаруживших ассоциацию между плазменным уровнем АГ и полиморфизмом T704C, приводящим к аминокислотной замене Met235Thr [37, 38]. В среднем, содержание АГ в плазме гомо- и гетерозиготных носителей варианта Thr235 превышает таковое у лиц с «нормальным» генотипом (Met235Met) на 20% и 10%, соответственно [39]. Несмотря на противоречивость данных о влиянии указанного полиморфизма на риск развития различных тромботических осложнений, большинство авторов считает его маркером эссенциальной гипертензии, по крайней мере, среди лиц европеоидной расы [38]. Более того, у женщин носительство варианта Thr235 ассоциировано с повышенным риском развития пре-эклампсии и гипертензии на фоне приема оральных контрацептивов [39].

*Полиморфизм в гене ангиотензин-превращающего фермента (ACE, I/D 287 п.н.)*

Важная биологическая и патофизиологическая роль АПФ (*англ.* — ACE, angiotensin-converting enzyme) отражена уже тем фактом, что значительную часть выпускаемых сегодня фармакологических препаратов, предназначенных для лечения гипертонии, составляют ингибиторы этого фермента. Повышенная активность АПФ приводит к увеличению продукции АТ II, а, следовательно, усилению потенциала РАС, т.е. стимуляции обусловленных данной системой эффекторных механизмов, играющих негативную роль в развитии сосудистой патологии. *Rigat et al* [40] обнаружили, что почти 50% межиндивидуальных различий в сывороточном уровне АПФ обусловлены инсерционно-делеционным полиморфизмом в 16-ом интроне гена ACE (I/D 287 п.н.). У гомозигот по аллелю «D» (deletion — делеция) уровень АПФ в плазме почти в 2 раза выше, чем у лиц с генотипом «II» (insertion — инсерция). Гетерозиготные носители аллеля «D» (генотип «ID») обладают промежуточными значениями уровней АПФ (так называемый эффект «дозы гена»).

Полиморфизм ACE 287 bp I/D является одним из первых установленных генетических маркеров коронарного атеросклероза и острого инфаркта миокарда, особенно среди лиц, не имеющих традиционных факторов риска этих заболеваний [41]. Между тем, роль данного полиморфизма, как и уровня АПФ, в развитии артериальной гипертензии еще недостаточно ясна. Полагают, что механизм повышения кровяного давления в ответ на увеличение активности АПФ может быть различным у мужчин и женщин [42]. В подтверждение этому некоторые авторы отмечают тот факт, что генотип ACE D/D или/и повышенный уровень АПФ в плазме являются факторами риска развития гипертонии и некоторых тромботических осложнений только у лиц мужского пола [43]. *Kim et al* обнаружили, что в группе пациентов с «низким риском» сердечно-сосудистой патологии генотип ACE D/D достоверно ассоциирован с повышенным уровнем PAI-1, как среди мужчин, так и у женщин в постменопаузальном периоде [44]. Более того, показано, что плазменный уровень PAI-1 снижается у лиц, принимающих ингибиторы АПФ [45]. Таким образом, угнетение фибринолиза является важным следствием гиперактивации РАС, что отчасти может объяснить эффект полиморфизма ACE 287 bp I/D на риск развития сердечно-сосудистых заболеваний независимо от наличия гипертонии. Сложный характер взаимодействия этого генетического варианта с иными факторами риска, по-видимому, объясняет противоречивость данных о его роли в предрасположенности к венозному тромбозу.

### *Полиморфизм в гене рецептора ангиотензина II первого типа (ATGR1, A1166C)*

Рецептор AT II первого типа (ATGR1) является ключевым элементом РАС, обеспечивающим передачу сигнала в клетку от главной эффекторной молекулы — AT II и, таким образом, опосредующим практически все наиболее важные функции данной системы в организме [34]. Наряду с ингибиторами АПФ, антагонисты (блокаторы) ATGR1 в последнее время достаточно широко используются в качестве противогипертонических препаратов. Важная роль ATGR1 в регуляции кровяного давления и процессах ангиогенеза подтверждается тем фактом, что блокада этих рецепторов приводит к снижению сократительной способности гладкомышечной мускулатуры, уменьшению продукции таких вазопрессорных агентов, как альдостерон, вазопрессин, эндотелин, катехоламины [34].

Ген ATGR1 расположен в локусе 3q24 и содержит значительное число полиморфизмов. Среди них наиболее пристальное внимание в ассоциативных исследованиях уделяется нуклеотидной замене A1166C в 3'-нетранслируемой области гена. Несмотря на то, что функциональная значимость этого полиморфизма остается пока невыясненной, целый ряд авторов высказывает предположение о его роли в развитии эссенциальной гипертензии, особенно ее тяжелых форм, устойчивых к комплексной терапии противогипертоническими препаратами [46,47]. Кроме того, существуют данные о синергичном эффекте полиморфизмов генов ATGR1 и ACE на риск развития артериальной гипертензии, коронарной болезни сердца, гипертрофической кардиомиопатии [48,49]. В связи с появлением в клинической практике специфических блокаторов рецептора ATGR1, встал вопрос о возможной фармакогенетической значимости полиморфизма A1166C. Первые результаты таких исследований оказались многообещающими. В частности, Miller J.A. et al сообщили о существенном улучшении гемодинамических показателей, увеличении скорости гломерулофильтрации и снижении уровня артериального давления у носителей аллеля 1166C, получавших терапию антагонистами ATGR1 [50].

***

Результаты исследований последних лет позволили существенно расширить наши представления о роли тромбофилического фактора в развитии целого ряда патологических состояний человека. В то же время, молекулярные механизмы формирования протромботических сдвигов в системе гемостаза во многом остаются неясными. В полной мере это относится и к феномену НТ, известные детерминанты которой могут быть выявлены менее чем у половины больных ВТ и еще реже — у пациентов с артериальной патологией [3]. С другой стороны, достаточно низкая пенетрантность отдельных генетических факторов риска с клиническими проявлениями тромбоза также является серьезным препятствием для широкого внедрения методов их диагностики в клиническую практику с целью первичной профилактики тромботических осложнений. Помимо целого ряда субъективных причин, сложившаяся ситуация во многом объясняется мультифакторной природой ТЭЗ и сложным характером взаимодействий генетических и экзогенных факторов риска, лежащих в основе или провоцирующих развитие патологических сдвигов в системе гемостаза. Более того, эпидемиологические исследования указывают на возможность неодинакового вклада тех или иных факторов (в том числе, генетических) в патогенез ТЭЗ у представителей различных популяционных групп [1].

Обнаружение большого числа полиморфизмов ДНК в геноме человека, способных оказывать влияние на функциональную активность компонентов различных гемостазиологических реакций, открывает перспективу для изучения феномена наследственной тромбофилии как полигенной патологии. Следует признать, что данные о роли большинства рассмотренных в обзоре генетических вариантов в формировании индивидуальной предрасположенности к тем или иным клиническим проявлениям тромбоза пока остаются весьма противоречивыми. К сожалению, достаточно редкими являются публикации, в которых авторами проводится анализ «межгенных взаимодействий» потенциальных маркеров повышенной склонности к тромбозу. Между тем, установление комбинаций полиморфизмов, усиливающих риск развития тромботических осложнений, позволило бы значительно расширить наши представления о молекулярных механизмах формирования НТ и ее распространенности в общей популяции. По всей видимости, именно определенные сочетания протромботических генетических вариантов, а также их комбинации с различными приобретенными факторами риска имеют решающее значение в становлении тромбофилического статуса индивида [4, 5]. Вероятно, специфичность влияния данных взаимодействий на функциональную активность системы гемостаза в целом, а также ее отдельных звеньев способна определять не только локализацию тромботического процесса, но и клиническую гетерогенность, в том числе, и прогноз, тромботических осложнений.

## ЛИТЕРАТУРА


1. *Rosendaal F.R. Risk factors for venous thrombotic disease // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 82. — P. 610-619.*
2. *De Stefano V., Finazzi G., Mannucci P.M. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management // Blood. — 1996. — Vol. 87. — P. 3531-3544.*
3. *De Stefano V., Rossi E., Paciaroni K., Leone G. Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications // Haematologica. — 2002. — Vol. 87. — P. 1095-1108.*
4. *Zoller B., Garcia de Frutos P., Hillarp A., Dahlback B. Thrombophilia as a multigenic disease // Haematologica. — 1999. — Vol. 84. — P. 59-70.*
5. *Lane D.A., Grant P.J. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and thrombosis arterial disease // Blood. — 2000. — Vol. 95. — P. 1517-1532.*
6. *Behague I., Poirier O., Nicaud V. et al. β fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM study // Circulation. — 1996. — Vol. 93. — P. 440-449.*
7. *Thomas A., Green F., Kelleher C. et al. Variation in the promoter region of the β fibrinogen gene is associated with plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers // Thromb. Haemost. — 1991. — Vol. 65. — P. 487-490.*
8. *Lee A.J., Fowkes F.G.R., Lowe G.D.O. et al. Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh Artery Study // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 81. — P. 553-560.*
9. *Kapustin S.I., Blinov M.N., Imyanitov E.N. et al. Underrepresentation of the –455A β-fibrinogen allele in survivors of pulmonary embolism // Thromb. Res. — 2002. — Vol. 106. — P. 89-90.*
10. *Mansfield M., Stickland M., Grant P. Environmental and genetic factors in relation to elevated circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1 in Caucasian patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus // Thromb. Haemost. — 1995. — Vol. 74. — P. 842-847.*
11. *Dawson S.J., Wiman B., Hamsten A. et al. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells // J. Biol. Chem. — 1993. — Vol. 268. — P. 10739-10745.*
12. *Kanaji T., Okamura T., Osaki K. et al. A common genetic polymorphism (46 C to T substitution) in the 5'-untranslated region of the coagulation factor XII gene is associated with low translational efficiency and decrease in plasma factor XII level // Blood. — 1998. — Vol. 91. — P. 2010-2014.*
13. *Berndt M.C., Shen Y., Dopheide S.M. et al. The vascular biology of the glycoprotein Ib-IX-V complex // Thromb. Haemost. — 2001. — Vol. 86. — P. 178-188.*
14. *Kohler H.P., Futers T.S., Grant P.J. FXII (46C→T) polymorphism and in vivo generation of FXII activity // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 81. — P. 745-747.*

15. Halbmayer W.M., Mannhalter Ch., Feichtinger Ch. et al. The prevalence of factor XII deficiency in 103 orally anticoagulated outpatients suffering from recurrent venous or arterial thromboembolism // Thromb. Haemost. — 1992. — Vol. 68. — P. 285-290.
16. Kohler H.P., Carter A.M., Stickland M.H., Grant P.J. Levels of activated FXII in survivors of myocardial infarction — association with circulating risk factors and extent of coronary artery disease // Thromb. Haemost. — 1998. — Vol. 79. — P. 14-18.
17. Endler G., Exner M., Mannhalter C. et al. A common C→T polymorphism at nt 46 in the promoter region of coagulation factor XII is associated with decreased factor XII activity // Thromb. Res. — 2001. — Vol. 101. — P. 255-260.
18. Ariens R.A.S., Lai T.-S., Weisel J.W. et al. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms // Blood. — 2002. — Vol. 100. — P. 743-754.
19. Dale G.L., Friese P., Batar P. et al. Stimulated platelets use serotonin to enhance their retention of procoagulant proteins on the cell surface // Nature. — 2002. — Vol. 415. — P. 175-179.
20. Ariens R.A.S., Philippou H., Nagaswami C. et al. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure // Blood. — 2000. — Vol. 96. — P. 988-995.
21. Schroeder V., Chatterjee T., Kohler H.P. Influence of blood coagulation factor XIII and FXIII Val34Leu on plasma clot formation measured by thromboelastography // Thromb. Res. — 2001. — Vol. 104. — P. 467-474.
22. Francis C.W., Connaghan D.G., Scott W.L., Marder V.J. Increased plasma concentration of cross-linked fibrin polymers in acute myocardial infarction // Circulation. — 1987. — Vol. 75. — P. 1170-1177.
23. Bray P.F. Integrin polymorphisms as risk factors for thrombosis // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 82. — P. 337-344.
24. Ridker P.M., Hennekens C.H., Schmitz C. et al. PlA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke and venous thrombosis // Lancet. –1997. — Vol. 349. — P. 385-388.
25. Zotz R.B., Klein M., Dauben H.P. et al. Prospective analysis after coronary-artery bypass grafting: platelet GP IIIa polymorphism (HPA-1b/$Pl^{A2}$) is a risk factor for bypass occlusion, myocardial infarction, and death // Thromb. Haemost. — 2000. — Vol. 83. — P. 404-407.
26. Kroll M.H., Hellums J.D., McIntire L.V. et al. Platelets and shear stress // Blood. — 1996. — Vol. 88. — P. 1525-1541.
27. Gonzalez-Conejero R., Lozano M.L., Rivera J. et al. Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Ibα associated with arterial thrombotic disease // Blood. — 1998. — Vol. 92. — P. 2771-2776.
28. Santoro S.A., Zutter M.M. The $\alpha_2\beta_1$ integrin: a collagen receptor on platelets and other cells // Thromb. Haemost. — 1995. — Vol. 74. — P. 813-821.
29. Kunicki T.J., Orchekowski R., Annis D., Honda Y. Variability of integrin alpha 2 beta 1 activity on human platelets // Blood. — 1993. — Vol. 82. — P. 2693-2703.
30. Kritzik M., Savage B., Nugent D.J. et al. Nucleotide polymorphisms in the $\alpha_2$ gene define multiple alleles that are associated with differences in platelet $\alpha_2\beta_1$ density // Blood. — 1998. — Vol. 92. — P. 2382-2388.
31. Corral J., Gonzalez-Conejero R., Rivera J. et al. Role of the 807 C/T polymorphism of the $\alpha_2$ gene in platelet GP Ia collagen receptor expression and function. Effect in thromboembolic diseases // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 81. — P. 951-956.
32. Santoso S., Kunicki T.J., Kroll H. et al. Association of the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction in younger patients // Blood. — 1999. — Vol. 93. — P. 2449-2453.
33. Carlsson L.E., Santoso S., Spitzer C. et al. The $\alpha_2$ gene coding sequence T807/A873 of the platelet collagen receptor integrin $\alpha_2\beta_1$ might be a genetic risk factor for the development of stroke in younger patients // Blood. — 1999. — Vol. 93. — P. 3583-3586.
34. Baudin B. Angiotensin II receptor polymorphisms in hypertension. Pharmacogenomic considerations // Pharmacogenomics. — 2002. — Vol. 3. — P. 65-73.
35. Dzau V.J., Re R. Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine: a paradigm shift? // Circulation. — 1994. — Vol. 89. — P. 493-498.
36. Ridker P.M., Gadboury C.L., Conlin P.R. et al. Stimulation of plasminogen activator inhibitor in vivo by infusion of angiotensin II. Evidence of a potential interaction between the renin-angiotensin system and fibrinolytic function // Circulation. — 1993. — Vol. 87. — P. 1969-1973.
37. Jeunemaitre X., Soubrier F., Kotelevtsev Y.V. et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen // Cell. — 1992. — Vol. 71. — P. 169-180.
38. Staessen J., Kuznetsova T., Wang J.G. et al. M235T angiotensinogen gene polymorphism and cardiovascular risk // J. Hypertens. — 1999. — Vol. 17. — P. 9-17.
39. Mulatero P., Morra di Cella S., Veglio F. Hypertension, genotype and oral contraceptives // Pharmacogenomics. — 2002. — Vol. 3. — P. 57-63.
40. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels // J. Clin. Invest. — 1990. — Vol. 86. — P. 1343-1346.

41. *Cambien F., Poirier O., Lecerf L. et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction // Nature. — 1992. — Vol. 359. — P. 641-644.*
42. *Schunkert H., Hense H.W., Muscholl M. et al. Association of angiotensin converting enzyme activity and arterial blood pressure in a population-based sample // J. Hypertens. — 1996. — Vol. 14. — P. 571-575.*
43. *O'Donnell C.J., Lindpaintner K., Larson M.G. et al. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not in women in the Framingham Heart Study // Circulation. — 1998. — Vol. 97. — P. 1766-1772.*
44. *Kim D.-K., Kim J.-W., Kim S. et al. Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1 // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 1997. — Vol. 17. — P. 3242-3247.*
45. *Wright R.A., Flapan A.D., Alberti K.G. et al. Effects of captopril therapy on endogenous fibrinolysis in men with recent, uncomplicated myocardial infarction // J. Am. Coll. Cardiol. — 1994. — Vol. 24. — P. 67-73.*
46. *Bonnardeaux A., Davies E., Jeunemaitre X. et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension // Hypertension. — 1994. — Vol. 24. — P. 63-69.*
47. *Kainulainen K., Perola M., Terwilliger J. et al. Evidence for involvement of the type 1 angiotensin II receptor locus in essential hypertension // Hypertension. — 1999. — Vol. 33. — P. 844-849.*
48. *Ishanow A., Okamoto H., Watanabe M. et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in patients with cardiac hypertrophy // Jap. Heart J. — 1998. — Vol. 39. — P. 87-96.*
49. *Tiret L., Bonnardeaux A., Poirier O. et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction // Lancet. — 1994. — Vol. 344. — P. 910-913.*
50. *Miller J.A., Thai K., Scholey J.W. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism predicts response to losartan and angiotensin II // Kidney Inter. — 1999. — Vol. 56. — P. 2173-2180.*

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

# СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА И ТЕРАГЕРЦОВАЯ ТЕРАПИЯ

*В. Ф. Киричук[1], А. А. Цымбал[1], О. Н. Антипова[1], В. Д. Тупикин[2], А. В. Майбородин[2], А. П. Креницкий[2], О. В. Бецкий[3]*

*Государственный медицинский университет [1],*
*Центральный научно-исследовательский институт измерительной аппаратуры [2], Саратов,*
*Институт радиотехники и электроники АН РФ [3], Москва*

# COAGULATION HEMOSTASIS IN CHRONIC STRESS AND TERAHERTZ THERAPY

*V. F. Kirichuk[1], A. A. Tsymbal[1], O. N. Antipova[1], V. D. Tupikin[2], A. V. Mayborodin[2], A. P. Krenistkiy[2], O. V. Betskiy[3]*

*State Medical University [1],*
*Central Scientific Research Institute of Measuring Equipment [2], Saratov,*
*Institute of radiotechnique and electronic AS RF [3], Moscow*

We have studied the effects of electromagnetic rays at nitric oxide molecular spectrum of radiation and absorption on blood coagulation properties of albino rats in state of chronic immobilizing stress. It was demonstrated that maximum high frequency (150,176–150,664 GHz) resulted in restoration of hemostasis parameters.

***Key words:*** *coagulation hemostasis — nitrogen oxide — maximum high frequency (MHF) waves.*

## ВВЕДЕНИЕ

Эндотелий неповрежденных кровеносных сосудов обладает антитромбогенными свойствами, которые обусловлены способностью эндотелиоцитов секретировать простациклин, тканевой активатор плазминогена, урокиназу, обладающую тромболитической активностью, протеин S, тромбомодулин и другие биологически активные вещества. В последние годы внимание большинства исследователей фокусируется на одной из активных молекул эндотелиального происхождения — оксиде азота [20, 26].

Простейшее химическое соединение — оксид азота — непрерывно продуцируется ферментативным путем в организме, выполняя функцию одного из универсальных регуляторов физиологических, патофизиологических и биохимических процессов [22]. Оксид азота (NO) участвует в регуляции тонуса кровеносных сосудов как антагонист адренергической нервной системы [22]. Высокая эффективность взаимодействия NO с гемоглобином in vivo приводит к распространенной локализации биологических эффектов оксида азота на определенных участках сосудов [22, 26]. Оксид азота ингибирует агрегацию тромбоцитов; воздействует на фибринолитическую активность крови, регулируя высвобождение активатора плазминогена и ингибитора-1 активатора плазминогена; облегчает распад тромбоцитарных агрегатов, модулируя внутрисосудистое свертывание крови и воспалительный процесс в сосудистой стенке [23, 26].

Оксид азота функционирует в центральной и вегетативной нервной системе, являясь важным нейромедиатором. Функции нейронального NO чрезвычайно многообразны: он контролирует осцилляторную активность нейронов; является медиатором ноцицепции, термогенеза, обоняния; снижает тревожность; играет центральную роль в процессе долгосрочной потенциации и, соответственно, обучения и памяти [20, 22, 26]. Оксид азота участвует в передаче нервного импульса по эфферентным волокнам и регуляции деятельности органов дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы [5]. Регуляторное действие NO реализуется генерацией его из гуанидинового атома азота L-аргинина семейством уникальных цитохром-Р-450-подобных гемопротеидов-NO-синтаз, которые присоединяют молекулярный кислород к конечному атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина [6, 21, 24].

Исследование и разработка методов регуляции секреции, функциональной активности и реакционной способности эндогенного NO в клетках, органах и в организме представляет несомненный научный и практический интерес для теоретической и клинической медицины. В связи с этим в настоящее время постоянно ведутся интенсивные поиски методов по созданию лекарственных препаратов, регулирующих секрецию и функциональную активность молекул NO в клетках и в организме в целом. Однако фармакологическая регуляция реакционной способности NO в живом организме может сопровождаться возникновением ряда стойких нежелательных побочных и в ряде случаев тяжелых аллергических реакций, что ограничивает широту и частоту применения данных лекарственных средств [5, 19]. Это диктует необходимость изыскания неинвазивных физических методов, влияющих на процессы функционального состояния эндогенного NO. Перспективным в этом отношении является использование диапазонов низкоинтенсивных терагерцовых частот — электромагнитных волн [7, 9, 10, 13, 15]. Терагерцовый диапазон частот (ТГЧ) находится на границе между электроникой и фотоникой от 100 ГГц до 10 ТГц (1 ТГц = $10^3$ ГГц) или в длинах волн от 3 мм до 30 мкм [4, 15]. Биофизические эффекты волн терагерцового диапазона дают основания и открывают перспективы развития новых направлений в биомедицинской технологии: «терагерцовая терапия» и «терагерцовая диагностика» [2].

Установлено, что этот диапазон волн используется живыми организмами для связи и управления, при этом сами живые организмы излучают колебания миллиметрового диапазона. Волны, возбуждаемые в организме при облучении его ТГЧ-излучением, в известной мере имитируют сигналы внутренней связи и управления (информационные связи) биологических объектов. В результате восстанавливается нормальное по спектру и мощности излучение, свойственное здоровому организму. Таким образом, представленный диапазон частот качественно не изменяет организм, но может отрегулировать, нормализовать его функциональное состояние в пределах, присущих данному биологическому виду [3]. С другой стороны, терагерцовый диапазон частот все больше обращает на себя внимание, поскольку в этом диапазоне в основном сосредоточены частотные спектры излучения и поглощения важнейших активных клеточных метаболитов (NO, $O_2$, $CO_2$, CO, $OH^-$ и др.) [4, 16].

Совершенно закономерно, что наибольший интерес вызывают электромагнитные волны молекулярного спектра излучения и поглощения NO, в том числе 150,176–150,664 ГГц [8, 9, 10, 11, 12, 13]. Так, имеются экспериментальные данные о влиянии данного вида излучения на микроциркуляторные, реологические свойства крови и тромбоцитарное звено системы гемостаза [10, 11, 12]. Однако, данные о воздействия низкоинтенсивного ТГЧ-излучения на частотах молекулярного спектра NO 150,176–150,664 ГГц на коагуляционное звено системы гемостаза и фибринолитический потенциал крови в условиях хронического стресса отсутствуют.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния электромагнитного излучения терагерцового диапазона молекулярного спектра излучения и поглощения NO 150,176–150,664 ГГц на патологически измененное коагуляционное звено системы гемостаза и фибринолитический потенциал крови белых крыс при экспериментальной хронической стресс-реакции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучали образцы плазмы крови 45 белых нелинейных крыс-самцов массой 180–220 грамм. Для воспроизведения экспериментальной стресс-реакции использовали длительный иммобилизационный стресс: ежедневная трехчасовая фиксация крыс в положении на спине на протяжении 6 суток [9]. Экспериментальных животных размещали в специально оборудованном помещении, доступ в которое был ограничен. Комната была обеспечена принудительной вентиляцией (12 объемов в час), исключающей рециркуляцию воздуха. Температуру и относительную влажность воздуха регистрировали ежедневно, колебания температуры составляли 20–25 °С, влажности — 40–70 %. Освещение было естественным. Животные получали питьевую воду без ограничения из стеклянных бутылок объемом 0,5 литра через стеклянные наконечники. Для устранения влияния сезонной и циркадной зависимости на показатели системы гемостаза эксперименты проводили в осенне-зимний период во второй половине дня.

Исследование включало 3 серии экспериментов: 15 интактных крыс — группа контроля; 15 животных, находившихся в состоянии хронического 6-ти дневного иммобилизационного стресса — группа сравнения; 15 животных с хроническим шестидневным иммобилизационным стрессом, получавшие 6-ти дневное до иммобилизации облучение ТГЧ-волнами в течение 30 минут — опытная группа. Режим облучения на протяжении 30 минут был выбран в связи с его максимальным нормализующим влиянием на показатели гемокоагуляции и функциональной активности сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза в условиях острой стресс-реакции [10, 13].

Облучение животных, находившихся в состоянии хронического иммобилизационного стресса, проводили ежедневно электромагнитными волнами на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота 150,176–150,664 ГГц (длина волн 1,991–1,997 мм) на предварительно выбритый участок кожи площадью 3 см$^2$ над областью мечевидного отростка грудины. Облучатель располагали на расстоянии 1,5 см над поверхностью тела животного. Мощность излучения генератора составляла 0,7 мВт, а плотность мощности, падавшей на участок кожи размером 3 см$^2$, составляла 0,2 мВт/см$^2$. Доза облучен ия определялась плотностью мощности, падавшей на кожу, и заданным временем облучения.

Для облучения животных использовали малогабаритный переносной медицинский аппарат «КВЧ-NO», разработанный в Медико-технической ассоциации КВЧ (Москва) совместно с ФГУП «ННП-Исток» (Фрязино) и ОАО ЦНИИИА (Саратов). Структура молекулярного ТГЧ-спектра электромагнитного излучения NO формируется в нем в соответствии с методами, предложенными и реализованными в квазиоптическом КВЧ генераторном комплексе моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований, разработанным в ОАО ЦНИИИА [17].

В группах контроля и сравнения проводились такие же манипуляции, сопутствующие облучению, как и у животных опытной группы. Отбор проб крови для исследования осуществляли в пластиковые пробирки путем пункции правых отделов сердца. В качестве стабилизатора крови использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1.

Состояние коагуляционного звена системы гемостаза исследовали с помощью серии тестов, выполненных на турбидиметрическом гемокоагулометре CGL 2110 «Solar» (Республика Беларусь, Минск) с использованием реактивов фирмы НПО «РЕНАМ» (Москва, Россия). Первую фазу процесса свертывания крови оценивали по активированному частичному тромбопластиновому времени, характеризующего формирование кровяной протромбиназы; вторую фазу — по протромбиновому времени, международному нормализованному отношению (МНО), отражающих образование тканевой протромбиназы; третью фазу — по уровню фибриногена, величине тромбинового времени и активности фактора XIII в плазме крови. Антикоагулянтную активность крови исследовали с помощью определения активности естественного первичного антикоагулянта группы серпинов — антитромбина-III и оценки функционального состояния системы протеина С плазмы крови. Фибринолитический потенциал крови изучали с помощью Хагеман-зависимого и индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза, рассчитывали индекс резерва плазминогена. Наличие маркеров диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома) устанавливали РФМК-тестом и клампинг-тестом.

Подобный комплексный подход в изучении состояния всех фаз коагуляционного каскада, антикоагулянтного и фибринолитического потенциалов крови позволил не только оценить все звенья этой поликомпонентной системы, но и получить интегральную информацию о состоянии про- и антитромботического потенциалов крови для анализа патофизиологических механизмов, вызвавших эти изменения, с целью разработки адекватных методов их коррекции указанным видом излучения.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с требованиями Женевской конвенции «*International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals*» (Geneva, 1990). Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0, реализованные на PC IBM Pentium IV. Для выявления достоверности изменений показателей коагуляционного звена системы гемостаза проверяли гипотезы о виде распределений (критерий Шапиро-Уилкса) и равенства дисперсий (критерий Ливина). В случае нормальных распределений и выполнения условий равенства дисперсий для сравнения значений использовали t-критерий Стьюдента; в случае распределений, отличных от нормальных, — U-Test Mann-Whitney.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты экспериментов показали, что длительная шестидневная жесткая иммобилизация белых крыс-самцов приводила к развитию глубокого «стресс-синдрома», проявляющегося как в резких нарушениях гемостатических функций организма, так и в изменении поведения животных.

Животные, подвергнутые длительной хронической иммобилизации, начиная со вторых-третьих суток эксперимента, становились тревожными, агрессивными, реагировали на слабые раздражители, отказывались от пищи. У некоторых животных к концу эксперимента развился геморрагический синдром, проявлявшийся петехиальными кровоизлияниями, «синяками» на слизистых оболочках и лапках в местах фиксации, продолжающимся неинтенсивным излиянием жидкой крови из места пункции сердца после отбора проб крови.

При исследовании коагуляционного звена системы гемостаза, антикоагулянтной активности крови, системы протеина С, фибринолитического потенциала крови выявлены статистически достоверные (по сравнению с группой контроля) изменения: удлинение активированного частичного тромбопластинового времени; увеличение протромбинового времени и МНО, обусловленное дефицитом кровяной и тканевой протромбиназы; одновременно снижалась активность III фазы коагуляционного каскада, тромбиновое время имело четкую тенденцию к удлинению, что было обусловлено гипофибриногенемией и избыточным накоплением в плазме продуктов деградации фибрина, обладающих антитромбиновым действием. Концентрация фибриногена резко снижалась, выявлено снижение активности фибринстабилизирующего фактора (**табл. 1**). Вместе с этим падала активность естественного антикоагулянта антитромбина-III, снижалась активность системы протеина С. Хагеман-зависимый и индуцированный стрептокиназой эуглобулиновый фибринолиз активировались, что сопровождалось укорочением времени эуглобулинового лизиса, возрастанием индекса резерва плазминогена. Обнаружено значительное количество ранних продуктов деградации фибриногена и растворимых фибрин-мономерных комплексов, характерных для внутрисосудистого тромбообразования (**табл. 2**).

Предварительное ежедневное в течение шести дней 30-ти минутное облучение животных, находившихся в состоянии хронического иммобилизационного стресса, электромагнитными волнами на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO 150,176–150,664 ГГц (длина волн 1,991–1,997 мм) вызывало полное восстановление патологически измененных показателей системы свертывания крови.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важных системных проявлений общей стресс-реакции является дезорганизация состояния различных звеньев системы гемостаза [18]. Известно, что даже в первые 15–30 секунд после начала действия стрессорного агента повышается активность ацетилхолинэстеразы и количество катехоламинов. Катехоламины, выделяющиеся в кровоток при остром стрессе, могут активировать процесс свертывания крови по внешнему и внутреннему путям активации протромбиназы и вызывать гиперкоагуляционный эффект острой стресс-реакции [28]. Степень развивающихся нарушений различна в зависимости от характера стрессорного агента, его силы и длительности воздействия [27].

В результате экспериментальных исследований у остро иммобилизированных белых крыс нами обнаружены гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза и признаки внутрисосудистого тромбообразования [13]. Однако, при длительной иммобилизации (хроническом стрессе) нами отмечено развитие выраженной коагулопатии потребления и значительной активации фибринолитического процесса. Развивающаяся коагулопатия потребления проявляется резким снижением содержания в крови фибриногена, протромбина, фибринстабилизирующего фактора. В результате истощения факторов свертывания и других компонентов коагуляционного каскада крови у животных развивались геморрагические явления [1].

У хронически иммобилизированных белых крыс была обнаружена активация фибринолитического потенциала крови и резкое накопление в крови продуктов деградации фибриногена, и, следовательно, снижение его содержания в крови. Активация фибринолитической системы крови в данном случае обусловлена различными механизмами. Одним из важнейших из них является усиление продукции эндотелием тканевого активатора плазминогена [14]. Стимулировать фибринолиз могут также тромбоцитарные и лейкоцитарные активаторы [14]. Кроме того, активированный протеин С подавляет выделение эндотелием ингибитора активатора плазминогена, вследствие чего поступление в кровь активатора плазминогена не контролируется и, следовательно, значительно усиливается [1]. Активация фибринолитического потенциала крови приводит к укорочению времени эуглобулинового лизиса и образованию значительного коли-

*Таблица 1.*

**Изменения состояния фаз коагуляционного каскада крови у белых крыс-самцов в условиях хронического стресса и предварительного 30-минутного облучения ТГЧ-волнами молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота 150,176–150,664 ГГц**

| Показатели коагуляционного гемостаза | Контроль (*n = 15*) | Хронический (шестидневный) иммобилизационный стресс (*n = 15*) | Предварительное шестидневное облучение в течение 30 минут (*n = 15*) |
|---|---|---|---|
| АЧТВ (сек.) | 20,5<br>(19,2; 22,0) | 31,1<br>(29,0; 31,4)<br>$Z_1 = 4,66$<br>$P_1 = 0,000003$ | 22,0<br>(20,0; 22,5)<br>$Z_1 = 0,29$<br>$P_1 = 0,771551$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,003$ |
| Протромбиновое время (сек.) | 21,6<br>(21,4; 23,0) | 25,7<br>(25,3; 26,0)<br>$Z_1 = 3,91$<br>$P_1 = 0,00089$ | 22,7<br>(21,4; 22,9)<br>$Z_1 = 1,14$<br>$P_1 = 0,254018$<br>$Z_2 = 4,04$<br>$P_2 = 0,0053$ |
| Международное нормализованное отношение (МНО) (усл.ед.) | 1,39<br>(1,38; 1,41) | 1,65<br>(1,63; 1,67)<br>$Z_1 = 4,00$<br>$P_1 = 0,000063$ | 1,46<br>(1,38; 1,47)<br>$Z_1 = 0,78$<br>$P_1 = 0,30649$<br>$Z_2 = 4,04$<br>$P_2 = 0,0053$ |
| Тромбиновое время (сек.) | 22,8<br>(22,4;23,1) | 26,3<br>(26,0; 26,8)<br>$Z_1 = 4,54$<br>$P_1 = 0,000006$ | 23,7<br>(22,5; 23,7)<br>$Z_1 = 0,51$<br>$P_1 = 0,604127$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,009$ |
| Фибриноген (г/л) | 4,0<br>(3,8; 4,2) | 2,9<br>(2,0; 3,0)<br>$Z_1 = 4,50$<br>$P_1 = 0,000007$ | 3,5<br>(3,9; 4,0)<br>$Z_1 = 1,41$<br>$P_1 = 0,158466$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,0003$ |
| Активность фактора XIII (%) | 50,0<br>(50,0; 75,0) | 25,0<br>(25,0; 25,0)<br>$Z_1 = 4,66$<br>$P_1 = 0,000003$ | 50,0<br>(50,0; 75,0)<br>$Z_1 = 0,00$<br>$P_1 = 1,0$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,000003$ |

*Примечание: в каждом случае приведены средняя величина (медиана Me), нижний и верхний квартили (25%; 75%) из 15 измерений; $Z_1$, $P_1$ — по сравнению с группой контроля; $Z_2$, $P_2$ — по сравнению с группой животных, находившихся в состоянии хронического шестидневного иммобилизационного стресса.*

чества плазмина, который вызывает деградацию фибрина, что в наших экспериментах приводило к значительному повышению содержания в крови продуктов деградации фибрина; вызывало деградацию фибриногена, и как следствие, снижение его содержания в крови, что и было нами зафиксировано; обусловливало протеолиз коагулирующих факторов, в том числе фибринстабилизирующего фактора, вследствие чего нами было отмечено снижение активности XIII фактора [14]. Определенная часть плазмина расщепляет фибриноген и другие нестабилизированные продукты его превращения — фибрин-мономеры, комплексы фибрин-мономеров с фибриногеном. Таким образом, под влиянием плазмина одновременно происходят фибринолиз и фибриногенолиз с интенсивным накоплением в крови продуктов деградации фибрина и фибриногена. Часть этих веществ выводится системой мононуклеарных фагоцитов; другая часть взаимодействует с фибрин-мономерами и наруша-

*Таблица 2.*

**Изменения антикоагулянтной активности, фибринолитического потенциала крови и концентрации маркеров ДВС-синдрома у белых крыс-самцов в условиях хронического стресса предварительного 30-минутного облучения ТГЧ-волнами молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота 150,176–150,664 ГГц**

| Показатели коагуляционного гемостаза | Контроль (*n = 15*) | Хронический (шестидневный) иммобилизационный стресс (*n = 15*) | Предварительное шестидневное облучение в течение 30 минут (*n=15*) |
|---|---|---|---|
| Антитромбин III (сек.) | 36,0<br>(34,9; 36,4) | 27,0<br>(27,0; 27,9)<br>$Z_1 = 4,66$<br>$P_1 = 0,000003$ | 34,4<br>(36,0; 34,5)<br>$Z_1 = 1,88$<br>$P_1 = 0,059127$<br>$Z_2 = 4,56$<br>$P_2 = 0,00009$ |
| Активность системы протеина С (усл.ед.) | 0,88<br>(0,86; 0,88) | 0,69<br>(0,68; 0,7)<br>$Z_1 = 4,66$<br>$P_1 = 0,000003$ | 0,75<br>(0,85; 0,87)<br>$Z_1 = 1,61$<br>$P_1 = 0,105740$<br>$Z_2 = 4,69$<br>$P_2 = 0,003$ |
| XIIa — калликреин-зависимый фибринолиз (мин.) | 14,0<br>(13,0; 14,0) | 9,0<br>(8,0; 11,0)<br>$Z_1 = 3,96$<br>$P_1 = 0,000005$ | 12,5<br>(12,0; 13,2)<br>$Z_1 = 1,90$<br>$P_1 = 0,056393$<br>$Z_2 = 4,58$<br>$P_2 = 0,0005$ |
| Индуцированный стрептокиназой эуглобулиновый фибринолиз (сек.) | 120,0<br>(120,0; 125,0) | 100,0<br>(100,0; 110,0)<br>$Z_1 = 4,45$<br>$P_1 = 0,000008$ | 116,0<br>(120,0; 118,0)<br>$Z_1 = 0,55$<br>$P_1 = 0,575511$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,000003$ |
| Индекс резерва плазминогена (%) | 66,6<br>(64,0; 66,6) | 72,7<br>(69,5; 72,7)<br>$Z_1 = 4,45$<br>$P_1 = 0,000008$ | 68,5<br>(66,1; 69,6)<br>$Z_1 = 0,55$<br>$P_1 = 0,575511$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,000003$ |
| РФМК — тест (мг/100 мл) | 3,5<br>(3,0; 3,5) | 8,0<br>(8,0; 8,0)<br>$Z_1 = 4,66$<br>$P_1 = 0,000003$ | 4,5<br>(3,5; 4,5)<br>$Z_1 = 0,35$<br>$P_1 = 0,724416$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,000003$ |
| Клампинг-тест (тест склеивания стафилококков) (мкг/мл) | 2,0<br>(2,0; 4,0) | 8,0<br>(8,0; 16,0)<br>$Z = 4,66$<br>$P_1 = 0,000003$ | 4,0<br>(2,0; 4,0)<br>$Z_1 = 0,00$<br>$P_1 = 1,0$<br>$Z_2 = 4,66$<br>$P_2 = 0,000003$ |

*Примечание: в каждом случае приведены средняя величина (медиана Ме), нижний и верхний квартили (25%; 75%) из 15 измерений; $Z_1$, $P_1$ — по сравнению с группой контроля; $Z_2$, $P_2$ — по сравнению с группой животных, находившихся в состоянии хронического шестидневного иммобилизационного стресса.*

ет их дальнейшую полимеризацию, в итоге образуются фибрин-мономерные комплексы, устойчивые к тромбину и не свертывающиеся [14].

Высокая концентрация продуктов деградации фибриногена и фибрина, обнаруженная нами в ходе эксперимента, обладает выраженным влиянием на систему гемостаза: ингибирует действие тромбина, полимеризацию фибрина (образуются фибрин-полимеры с дефектом структуры и функционально неполноценные), нарушает функцию тромбоцитов и выделительную функцию ретикулоэндотелиальной системы [14]. В связи с указанными свойствами продукты деградации фибрина и фибриногена вызывают развитие геморрагического синдрома, проявляющегося в проведенных нами экспериментах петехиальными кровоизлияниями, «синяками» на слизистых оболочках и лапках в местах фиксации, продолжающимся неинтенсивным излиянием жидкой крови из места пункции сердца после забора крови.

Данные литературы, посвященные исследованию роли оксида азота в организме млекопитающих, свидетельствуют о его важной функции как активного клеточного регулятора — мессенджера в гемореологических, гемокоагуляционных и микроциркуляторных процессах [20]. Под влиянием NO происходит изменение геометрических параметров сосудов вследствие их дилатации, нормализация функционального состояния клеточной мембраны, фибринолитической активности и коагуляционного потенциала крови, микроциркуляции [25].

Нами показано, что предварительное шестидневное облучение ТГЧ — электромагнитным излучением на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO — предупреждало развитие стрессзависимых изменений в процессе свертывания крови и фибринолиза, что свидетельствует о принципиальной возможности коррекции этих изменений данным видом излучения.

Облучение животных терагерцовыми электромагнитными волнами на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO 150,176–150,664 ГГц (длина волн 1,991–1,997 мм) в значительной мере предотвращало развитие выше описанных нарушений в системе гемостаза, поскольку под воздействием электромагнитного излучения этих на частотах происходила нормализация течения фаз коагуляционного каскада, антикоагулянтной и фибринолитической активности крови, в том числе за счет усиления высвобождения активатора плазминогена и ингибитора-1 плазминогена из сосудистой стенки, а также дезагрегации тромбоцитарных агрегатов [9, 10, 12, 13].

Возможно, это связано, с одной стороны, с тем, что экзогенное воздействие электромагнитного излучения терагерцовой частоты 150,176–150,664 ГГц приводит к изменению вращательной составляющей полной энергии молекул NO. В процессе этого взаимодействия энергия ТГЧ-кванта расходуется на переход молекул на более высокий вращательный энергетический уровень, в результате чего происходит увеличение вращательной кинетической энергии и диффузионной способности молекул NO, что приводит к изменению реакционной способности молекул NO [3]. Известно, что вращательный молекулярный спектр излучения и поглощения оксида азота находится именно в ТГЧ-диапазоне — 150,176–150,664 ГГц [16].

С другой стороны, это может быть связано с восстановлением нарушенных функциональных свойств тромбоцитов, запускающих каскадный механизм процесса свертывания крови. Можно предположить, что одним механизмов восстановления функциональной активности тромбоцитов является повышение реакционной способности свободного эндогенного NO, находящегося в тромбоцитах, либо увеличение продолжительности его существования в клетках [10]. Возможно, что механизм восстанавливающего эффекта электромагнитных волн на указанных частотах молекулярного спектра NO на агрегацию тромбоцитов обусловлен их влиянием на активность ферментов NO-синтетазы и гуанилатциклазы, приводящим в конечном итоге к образованию NO и цГМФ. Последний, наряду с цАМФ, обладает мощными антиагрегационными свойствами [10].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных серий собственных экспериментов можно сделать вывод о том, что электромагнитное излучение терагерцового диапазона молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота 150,176–150,664 ГГц обладает выраженным антистрессовым и коагуляционностабилизирующим эффектами. Ежедневный 30-ти минутный режим облучения животных, подвергнутых длительной иммобилизации, электромагнитным излучением терагерцового диапазона молекулярного спектра NO 150,176–150,664 ГГц может служить методом предотвращения нарушений в системе гемостаза за счет нормализации коагуляционного и фибринолитического потенциалов крови.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед, 2001. — 286 с.*
2. *Бецкий О.В., Креницкий А.П., Майбородин А.В., Тупикин В.Д. Биофизические эффекты волн терагерцового диапазона и перспективы развития новых направлений в биомедицинской технологии: «Терагерцовая*

*терапия» и «Терагерцовая диагностика» // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 12. — С. 3-6.*

3. *Бецкий О.В., Девятков Н.Д. Миллиметровые волны низкой интенсивности в медицине и биологии // Биомедицинская электроника. — 1998. — № 4. — С. 13-29.*
4. *Гершензон Е.М., Малов Н.Н. Молекулярная физика. — М.: Академия, 2002. — 272 с.*
5. *Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. — М.: ИД Медпрактика-М, 2004. — 180 с.*
6. *Горрен А.К., Майцер Б.В. Универсальная комплексная энзимология синтазы оксида азота // Биохимия. — 1998. — № 7. — С. 870-880.*
7. *Киричук В.Ф., Головачева Т.В. КВЧ-терапия. — Саратов: СарГМУ, 1999. — 162 с.*
8. *Киричук В.Ф., Креницкий А.П. Оксид азота и электромагнитные излучения КВЧ // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2002. — № 10. — С. 95-108.*
9. *Киричук В.Ф., Антипова О.Н. Тупикин В.Д. Антистрессорное действие электромагнитного излучения терагерцового диапазона частот молекулярного спектра оксида азота // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2004. — № 11. — С. 2-20.*
10. *Киричук В.Ф., Иванов А.Н., Антипова О.Н., Тупикин В.Д. Характер сдвигов в активности тромбоцитов белых крыс, находящихся в состоянии иммобилизационного стресса, под влиянием ТГЧ-облучения на частотах оксида азота // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2004. — № 2. — С. 49-56.*
11. *Киричук В.Ф., Малинова Л.И., Тупикин В.Д. Гемореология и электромагнитное излучение КВЧ-диапазона. — Саратов: СарГМУ, 2003. — 190 с.*
12. *Киричук В.Ф., Антипова О.Н., Майбородин А.В., Тупикин В.Д. Восстановление микроциркуляторных расстройств под влиянием ЭМИ КВЧ на частотах оксида азота in vivo // Миллиметровые волны в биологии и медицин. — 2004. — № 2. — С. 57-69.*
13. *Киричук В.Ф., Цымбал А.А., Антипова О.Н. и соавт. Гемокоагуляция и электромагнитное излучение терагерцового диапазона молекулярного спектра оксида азота // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2004. — № 11. — С. 28-34.*
14. *Киричук В.Ф. Физиология крови. — Саратов: СарГМУ, 2005. — 140 с.*
15. *Конако Ф.Р. Терагерцовые волны // Ж. «Ломоносов». — 2002. — № 5. — С. 1-9.*
16. *Креницкий А.П., Майбородин А.В., Бецкий О.В., Тупикин В.Д. Панорамно-спектрометрический комплекс для исследования тонких структур молекулярных спектров физических и биологических сред // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2001. — № 8. — С. 35-47.*
17. *Креницкий А.П., Майбородин А.В., Бецкий О.В. и соавт. Квазиоптический КВЧ генераторный комплекс моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2001. — № 2. — С. 17-24.*
18. *Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. — 1998. — № 63. — С. 992-1000.*
19. *Ольбинская Л.И., Лазебник Л.Б. Донаторы оксида азота в кардиологии. — М.: Русский дом, 1998. — 172 с.*
20. *Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer and function // Lancet. — 1994. — № 343. — P. 11-20.*
21. *Cooke J., Dzau V.J. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases // Circulation. — 1998. — № 96. — P. 379-382.*
22. *Devies M.G. Clinical biology of nitric oxide // Brit. J. Surg. — 1997. — № 82. — P. 1598-1610.*
23. *Furchgot R.F., Jothianandan D. Endothelium-dependent and independent vasodilatation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light // Blood Vessels. — 1991. — № 28. — P. 52-61.*
24. *Iggnaro L.G. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide // Annu. Rev. Pharmacol. Toxical. — 1990. — № 30. — P. 535-560.*
25. *Murad F. Nitric oxide — biogeneration, regulation, and relevance to human diseases // Frontiers in Bioscience. — 2003. — № 8. — P. 264-278.*
26. *Snyder D. Biological roles of nitric oxide // Sci. Am. — 1995. — № 266. — P. 68-77.*
27. *Steptol A. Stress and illness // Psychologist. — 1993. — № 6. — P.76-82.*
28. *Takeda H. Stress-induced gastric mucosal lesion and platelet aggregation in rats // J. Clin. Gastroenterol. — 1994. — № 14. — P. 145-148.*

# КОРРЕКЦИЯ ОСТРОЙ СТРЕСС-ЗАВИСИМОЙ КОАГУЛЯЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА МЕТОДОМ КВЧ-ТЕРАПИИ

*А. А. Цымбал*

*Саратовский государственный медицинский университет, кафедра нормальной физиологии, Саратов*

# TREATMENT OF ACUTE STRESS-DEPENDENT COAGULATION DISORDERS BY ELECTROMAGNETIC RAYS OF MAXIMUM HIGH FREQUENCY

*A. A. Tsymbal*

*State Medical University, chair of normal physiology, Saratov*

We have studied the effects of electromagnetic rays (of maximum high frequency in molecular spectrum of radiation and absorption of nitrogen oxide) on blood coagulation properties of white laboratory rats that were subjected to immobilization stress. It has been revealed that maximum high frequency radiation resulted in restoration of hemostasis coagulation disorders.

***Key words:*** *coagulation hemostasis — high frequency electromagnetic rays — nitrogen oxide.*

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на успехи современной медицины и большое количество новейших медикаментозных средств, проблема адекватной терапии сердечно-сосудистой патологии, в частности, ишемической болезни сердца, острого инфаркта миокарда, тромбоэмболии легочной артерии, ДВС-синдрома и тромбофилий остается чрезвычайно актуальной, поскольку данная патология по-прежнему лидирует среди основных причин смертности взрослого активного, работоспособного населения. В возникновении перечисленных и многих других заболеваний важную роль играет чрезмерная по интенсивности или длительности стрессорная реакция, вызванная различными факторами окружающей среды. Одним из важнейших системных проявлений стресс-реакции является нарушение различных звеньев системы гемостаза, выраженность которого различна в зависимости от характера стрессорного агента, его силы и длительности воздействия. В связи с этим необходима разработка эффективных методов профилактики и лечения изменений, возникающих в организме при стрессе.

До последнего времени большинство исследователей использовали медикаментозную профилактику изменений, вызываемых стрессом. Однако применение лекарственных препаратов, наряду с достижением желаемого эффекта, нередко сопровождается развитием тяжелых побочных и аллергических реакций [18].

Прогресс фундаментальной науки и медицинской техники, а также клинической медицины в последние годы в значительной степени определяется достижениями в области КВЧ-техники. Возрастающий интерес медиков обусловлен, прежде всего, неисчерпаемыми возможностями КВЧ-излучения, обладающего поистине уникальными свойствами. Электромагнитное излучение крайне высокой частоты представляет собой поле с частотой от 30 до 300 ГГц и соответствует длинам волн от 1 до 10 мм. Установлено, что рассматриваемый диапазон волн используется живыми организмами для связи и управления, при этом сами живые организмы излучают колебания миллиметрового диапазона. Волны, возбуждаемые в организме при облучении его КВЧ-излучением, в известной мере имитируют сигналы внутренней связи и управления (информационные связи) биологических объектов. В результате восстанавливается нормальное по спектру и мощности излучение, свойственное здоровому организму [10].

В связи с этим закономерно, что внимание ученых привлекают физические методы воздействия на биосистему (в том числе на систему гемостаза и реологии крови) с помощью низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты молекулярного спектра излучения и поглощения активных метаболитов, в частности, оксида азота (NO), который является одним из наиболее важных биологических медиаторов и вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов [8–11]. Так, NO обеспечивает реализацию разнообразных физиологических функций, таких как вазодилатация, бронходилатация, нейротрансмиссия, агрегация тромбоцитов, реакции иммунной системы, регуляция фагоцитарной активности макрофагов, тонуса гладких мышц, состояния гемокоагуляции, регуляция почечной гемодинамики и гломерулярной фильтрации, обеспечение моторной функции желудочно-кишечного тракта, памяти, а также участвует в некоторых патологических процессах [6, 22–26]. Важная роль NO в многочисленных биологических процессах в организме явилась основанием для того, чтобы назвать NO в 1991 году Молекулой Года [25].

Синтез NO в организме человека и животных осуществляется в результате пятиэлектронного окисления концевого атома азота гуанидина аминокислоты L-аргинина с помощью семейства ферментов, определяемых как NO-синтазы и относящихся к классу гемсодержащих циторедуктаз, подобных цитохрому Р-450. Образовавшийся NO представляет собой гидрофобный газ с уникальными химическими свойствами, делающими его удивительно подходящим для роли внутри- и межклеточного посредника [20, 28].

Разработка методов регуляции синтеза эндогенного NO в клетках, органах и в организме в целом, несомненно, представляет как научный, так и практический интерес. Однако фармакологическая регуляция этого процесса в живом организме может сопровождаться комплексом тяжелых побочных эффектов. Это диктует необходимость поиска неинвазивных физических методов, корректирующих уровень образования эндогенного NO [7, 13]. Перспективным с точки зрения поставленной задачи является использование низкоинтенсивного КВЧ-излучения на частотах молекулярного спектра NO [10]. К настоящему времени накоплен экспериментальный материал о закономерностях влияния КВЧ-облучения на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO на реологические свойства крови и тромбоцитарное звено системы гемостаза [8, 9, 11, 17]. Однако данные о закономерностях воздействия данного вида электромагнитного излучения на коагуляциионное звено системы гемостаза отсутствуют.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния КВЧ-излучения на частотах молекулярного спектра поглощения и излучения NO (150,176–150,664 ГГц) на коагуляционные свойства крови белых крыс при экспериментальной острой стресс-реакции и возможность коррекции стресс-индуцированных изменений в процессе гемокоагуляции с помощью данного вида излучения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для воспроизведения острой стресс-реакции использовали жесткую иммобилизацию в положении на спине 83 белых нелинейных крыс-самок массой 180–220 грамм в течение 3 часов [1]. Исследование включало 5 серий экспериментов: 25 интактных крыс — группа контроля; 19 животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса — группа сравнения; по 13 животных в трех опытных группах, подвергнутых облучению в состоянии жесткого иммобилизационного стресса на предварительно выбритый участок кожи площадью 3 см$^2$ над областью мечевидного отростка грудины. Доза облучения определялась плотностью мощности, падающей на кожу, равной 0,2 мВт/см$^2$, и заданным временем облучения. Продолжительность однократного облучения составляла 5, 15 и 30 минут. В группах контроля и сравнения проводили такие же манипуляции, сопутствующие облучению, как и у животных опытных групп.

Для облучения животных использовали медицинский аппарат «КВЧ-NO», разработанный в Медико-технической ассоциации КВЧ (Москва) совместно с ФГУП «ННП-Исток» (Фрязино) и ОАО ЦНИИИА (Саратов). Структура молекулярного КВЧ-спектра электромагнитного излучения оксида азота формируется в нем в соответствии с методами, предложенными и реализованными в квазиоптическом КВЧ-генераторном комплексе моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований, разработанным в ОАО ЦНИИИА [14].

Отбор проб крови для исследования осуществляли в пластиковые пробирки путем пункции правых отделов сердца. В качестве стабилизатора крови использовался 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Состояние системы гемостаза исследовали с помощью серии тестов, выполненных на турбидиметрическом гемокоагулометре «CGL-2110» фирмы «Solar» (Республика Беларусь, Минск), с использованием реактивов фирм «Технология-Стандарт» (Барнаул) и НПО «РЕНАМ» (Москва).

Первую фазу процесса свертывания крови оценивали посредством определения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), характеризующего формирование кровя-

*Таблица 1.*

**Изменения состояния фаз коагуляционного каскада у белых крыс-самок при экспериментальной стресс-реакции и различных временных режимах облучения электромагнитным излучением крайне высокой частоты молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота**

| Показатели | Контроль (*n* = *25*) | Иммобилизационный стресс (*n* = *19*) | Стресс совместно с облучением | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 5 минут (*n* = *13*) | 15 минут (*n* = *13*) | 30 минут (*n* = *13*) |
| АЧТВ (сек.) | 22,7 ± 0,8 | 19,8 ± 0,7<br>$p_1 < 0{,}05$ | 19,9 ± 0,81<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 > 0{,}10$ | 22,5 ± 0,5<br>$p_1 > 0{,}05$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$ | 22,6 ± 0,8<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$<br>$p_4 > 0{,}10$ |
| ПТВ (сек.) | 18,4 ± 0,7 | 15,9 ± 0,7<br>$p_1 < 0{,}05$ | 16,0 ± 0,40<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 > 0{,}10$ | 18,2 ± 0,2<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$ | 18,3 ± 0,4<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$<br>$p_4 > 0{,}10$ |
| ПТИ (%) | 83,8 ± 0,6 | 97,4 ± 0,9<br>$p_1 < 0{,}05$ | 96,7 ± 0,90<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 < 0{,}05$ | 85,2 ± 0,9<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$ | 84,0 ± 0,9<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$<br>$p_4 < 0{,}05$ |
| ТВ (сек.) | 22,4 ± 0,7 | 15,9 ± 0,3<br>$p_1 < 0{,}05$ | 16,0 ± 0,7<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 > 0{,}10$ | 22,3 ± 0,8<br>p1 > 0,10<br>p2 < 0,05<br>p3 < 0,05 | 22,3 ± 0,8<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$<br>$p_4 > 0{,}10$ |
| Фибриноген (г/л) | 4,8 ± 0,9 | 5,3 ± 0,9<br>$p_1 < 0{,}05$ | 5,3 ± 0,7<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 > 0{,}10$ | 5,00 ± 0,38<br>p1 > 0,10<br>p2 < 0,05<br>p3 < 0,05 | 4,90 ± 0,24<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$<br>$p_4 > 0{,}10$ |
| Активность фактора XIII (%) | 50,0 ± 0,9 | 75,0 ± 0,9<br>$p_1 < 0{,}05$ | 75,0 ± 0,7<br>$p_1 < 0{,}05$<br>$p_2 > 0{,}10$ | 50,00 ± 0,96<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$ | 50,0 ± 0,9<br>$p_1 > 0{,}10$<br>$p_2 < 0{,}05$<br>$p_3 < 0{,}05$<br>$p_4 > 0{,}10$ |

*Примечание: $p_1$ — по сравнению с группой контроля; $p_2$ — по сравнению с группой животных в состоянии иммобилизационного стресса; $p_3$ — по сравнению с группой животных, подвергнутых 5 минутному КВЧ-облучению на фоне стресса; $p_4$ — по сравнению с группой животных, подвергнутых 15 минутному КВЧ-облучению на фоне стресса.*

ной протромбиназы; вторую фазу — определением протромбинового времени (ПТВ) и протромбинового индекса (ПТИ), отражающих образование тканевой протромбиназы; третью фазу — по уровню фибриногена, величине тромбинового времени (ТВ) и активности фактора XIII в плазме крови. Антикоагулянтную активность крови исследовали с помощью измерения активности естественного прогрессивного антикоагулянта антитромбина III (AT III) и оценки системы протеина С плазмы крови. Фибринолитический потенциал крови изучали с помощью Хагеман-зависимого и индуцированного стрептокиназой эуглобулинового фибринолиза, рассчитывали индекс резерва плазминогена. Наличие маркеров ДВС-синдрома устанавливали по РФМК-тесту и клампинг-тесту.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с требованиями Женевской конвенции «*International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals*» (Женева, 1990) .

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ «Microsoft Excel 2002», «NCSS 2000 and PASS 2000», реализованных на PC IBM «Pentium IV». Данные представлены в виде M±m. Для выявления достоверности изменений показателей коагуляционного звена системы гемостаза проверяли гипотезы о виде распределений (критерий Шапиро-Уилкса) и равенства дисперсий (критерий Ливина). В случае нормальных распределений и выполнения

*Таблица 2.*

**Изменения антикоагулянтной активности, фибринолитического потенциала крови и концентрации маркеров ДВС-синдрома у белых крыс-самок при экспериментальной стресс-реакции и различных временных режимах облучения электромагнитным излучением крайне высокой частоты молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота**

| Показатели | Контроль ($n = 25$) | Иммобилизационный стресс ($n = 19$) | Стресс совместно с облучением | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 5 минут ($n = 13$) | 15 минут ($n=13$) | 30 минут ($n=13$) |
| АТ III (сек.) | 26,0 ± 0,9 | 24,4 ± 0,7<br>$p_1 < 0,05$ | 24,6 ± 0,5<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 > 0,10$ | 25,9 ± 0,4<br>$p_1 > 0,10$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 25,9 ± 0,9<br>$p_1 > 0,10$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 > 0,10$ |
| Активность системы протеина С в виде МНО | 0,88 ± 0,90 | 0,7 ± 0,7<br>$p_1 < 0,05$ | 0,72 ± 0,5<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 > 0,10$ | 0,8 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 0,86 ± 0,9<br>$p_1 > 0,10$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 < 0,05$ |
| XIIa-калликреин-зависимый фибринолиз (мин.) | 14,2 ± 0,8 | 41,9 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$ | 41,9 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 > 0,10$ | 14,3 ± 0,7<br>$p_1 > 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 14,3 ± 0,9<br>$p_1 > 0,10$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 > 0,10$ |
| Индуцированный стрептокиназой эуглобулиновый фибринолиз (сек.) | 131,0 ± 0,9 | 249,0 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$ | 244,0 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$ | 135,0 ± 0,7<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 134,0 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 < 0,05$ |
| Индекс резерва плазминогена (%) | 61,5 ± 0,8 | 32,0 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$ | 32,5 ± 0,7<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$ | 59,6 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 60,2 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 < 0,05$ |
| РФМК (мг/100 мл) | 5,0 ± 0,3 | 7,5 ± 0,4<br>$p_1 < 0,05$ | 7,0 ± 0,3<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$ | 5,5 ± 0,7<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 5,0 ± 0,1<br>$p_1 > 0,10$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 < 0,05$ |
| Клампинг-тест (тест склеивания стафилококков) (мкг/мл) | 2,0 ± 0,7 | 16,0 ± 0,7<br>$p_1 < 0,05$ | 8,0 ± 0,5<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$ | 4,0 ± 0,9<br>$p_1 < 0,05$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$ | 2,0 ± 0,9<br>$p_1 > 0,10$<br>$p_2 < 0,05$<br>$p_3 < 0,05$<br>$p_4 < 0,05$ |

*Примечание: $p_1$ — по сравнению с группой контроля; $p_2$ — по сравнению с группой животных в состоянии иммобилизационного стресса; $p_3$ — по сравнению с группой животных, подвергнутых 5 минутному КВЧ-облучению на фоне стресса; $p_4$ — по сравнению с группой животных, подвергнутых 15 минутному КВЧ-облучению на фоне стресса.*

условий равенства дисперсий для сравнения значений использовали t-критерий Стьюдента; в случае распределений, отличных от нормальных, — U-тест Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при *p< 0,05*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных, находившихся в состоянии острого иммобилизационного стресса, выявлены значительные изменения в коагуляционном звене системы гемостаза, проявляющиеся статистически достоверным (по сравнению с группой контроля) сокращением АЧТВ, ПТВ, увеличением ПТИ, что было обусловлено усилением образования кровяной и тканевой протромбиназы; одновременной активацией III фазы гемокоагуляции, так как ТВ имело четкую тенденцию к укорочению, а концентрация фибриногена и активность фактора XIII были повышены (**табл. 1**). Вместе с этим падала активность AT III и появлялся дефицит системы протеина C; угнетался Хагеман-зависимый и индуцированный стрептокиназой эуглобулиновый фибринолиз, снижался индекс резерва плазминогена; обнаружены ранние продукты деградации фибриногена и растворимые фибрин-мономерные комплексы, характерные для внутрисосудистого тромбообразования (**табл. 2**).

Воздействие КВЧ-излучения в течение 5 минут на животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса, не вызывало значительных изменений исследованных параметров, о чем свидетельствовало отсутствие статистически достоверных различий основных показателей коагуляционного потенциала данной группы по сравнению с группой животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса. При этом выявлены статистически значимые различия исследованных показателей по сравнению с таковыми в контрольной группе (**табл. 1, 2**).

Анализ результатов исследования коагуляционных свойств крови животных, находившихся в состоянии стресса и подвергшихся воздействию КВЧ-облучения в течение 15 минут, установил частичное, но более выраженное, чем при 5-минутном режиме облучения, восстановление антикоагулянтного и фибринолитического потенциалов крови, нормализацию течения всех фаз коагуляционного каскада. Это подтверждалось наличием статистически достоверных различий указанных показателей по сравнению с таковыми в группах животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса, и животных, подвергнутых 5-минутному облучению.

При 30 минутном облучении животных, находившихся в состоянии жесткого иммобилизационного стресса, КВЧ-электромагнитным полем на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO, наблюдали исчезновение маркеров ДВС-синдрома и полное восстановление патологически измененных показателей системы гемокоагуляции. При этом время эуглобулинового фибринолиза, индуцированного стрептокиназой, и индекс резерва плазминогена нормализовались частично и статистически достоверно отличались от данных в группе контроля.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В возникновении многих форм патологии человека важную роль играет чрезмерная по интенсивности или длительности стрессорная реакция, вызванная различными факторами окружающей среды [27]. Одним из важных системных проявлений стресс-реакции является изменение состояния различных звеньев системы гемостаза [16, 30, 31]. Большинство исследователей наблюдали гиперкоагуляционный эффект стресса, причем степень развивающихся нарушений зависит от характера стрессорного агента, его силы и длительности воздействия. Известно, что даже в первые 15–30 секунд после начала действия стрессорного агента повышается активность ацетилхолинэстеразы и количество катехоламинов. Катехоламины, выделяющиеся в кровоток при стрессе, активируют процесс свертывания крови по внешнему и внутреннему путям формирования протромбиназы [4]. Полагают, что на ранних этапах стрессорной реакции выделяется большое количество тромбопластина из форменных элементов крови, тканей и эндотелия сосудов, что также способствует возрастанию коагуляционного потенциала крови [29]. Однако некоторые авторы отмечали двухфазные изменения в системе гемостаза, выражавшиеся в активации свертывания крови в начале стрессорного воздействия с последующим резким снижением показателей активности гемокоагуляции [19].

В результате серии собственных экспериментальных исследований у иммобилизированных белых крыс нами были обнаружены гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза и признаки внутрисосудистого тромбообразования, что не противоречит данным других авторов [1, 16]. В основе этих изменений может лежать высвобождение факторов свертывания крови из форменных элементов крови, тканей и сосудистой стенки, приводящие к активации внутрисосудистого свертывания крови.

Принимая во внимание тот факт, что электромагнитное излучение крайне высокой частоты может воздействовать на основные факторы, играющие важную роль в формировании гемостатического потенциала, нами изучена возможность коррекции стрессзависимых изменений гемостаза с помощью КВЧ-электромагнитного поля на частотах молекулярного спектра поглощения и излучения оксида азота 150,176–150,664 ГГц [10].

Данные многочисленных литературных публикаций, посвященных исследованию роли NO в организме млекопитающих, свидетельствуют о его важной функции как активного клеточного регулятора — мессенджера в гемореологических, гемокоагуляционных и микроциркуляторных процессах: под его влиянием происходит изменение геометрических параметров сосудов вследствие их дилатации, нормализация функционального состояния клеточной стенки, а также коагуляционного потенциала крови и микроциркуляции [5, 6, 15, 19]. Нами показано, что проводимое параллельно с действием стрессорного агента облучение КВЧ-электромагнитным излучением на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO предупреждает развитие стресс-зависимых изменений в системе гемостаза, что свидетельствует о принципиальной возможности коррекции этих изменений данным видом излучения.

Облучение животных в значительной мере предотвращает гиперкоагуляционный эффект стресса, что обусловлено снижением активности протромбинового комплекса, замедлением скорости формирования фибринового сгустка, нормализацией антикоагулянтного звена системы гемостаза. Возможно, это связано, с одной стороны, с тем, что экзогенное воздействие электромагнитного излучения крайне высокой частоты приводит к изменению вращательной составляющей полной энергии молекул NO. В процессе этого взаимодействия энергия КВЧ-кванта расходуется на переход молекул на более высокий вращательный энергетический уровень, в результате чего, происходит увеличение вращательной кинетической энергии и диффузионной способности молекул NO, что таким образом и приводит к изменению реакционной способности молекул NO [3]. Доказано, что вращательный молекулярный спектр излучения и поглощения NO находится именно в КВЧ-диапазоне [2, 12]. С другой стороны, это может быть связано с восстановлением за счет воздействия КВЧ-электромагнитного излучения на частотах молекулярного спектра NO нарушенных при стрессе функциональных свойств тромбоцитов, запускающих каскадный механизм процесса свертывания крови [10, 11].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании представленных данных можно сделать вывод о положительном влиянии КВЧ-излучения на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения NO (150,176–150,664 ГГц) на коагуляционные свойства крови у животных, находившихся в состоянии жесткого иммобилизационного стресса. При 5-минутном режиме облучения положительный эффект на показатели, характеризующие коагуляционный потенциал крови, был незначительным. Наиболее эффективными в восстановлении показателей гемокоагуляции оказались 15- и 30-минутные режимы облучения. Поэтому мы полагаем, что данный вид излучения обладает антистрессовым эффектом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Антонов А.М., Беликина Н.В., Георгиева С.А. и соавт. Адаптационные реакции организма и система свертывания крови // X съезд Всерос. физиол. об-ва им. И.П. Павлова. — Ереван, 1964. — № 2. — С. 47.*
2. *Башаринов А.Е., Тучков Л.Г., Поляков В.М. Измерение радиотепловых и плазменных излучений в СВЧ-диапазоне. — М.: Сов. Радио, 1968.*
3. *Бецкий О.В., Лебедева Н.Н. Современные представления о механизмах воздействия низкоинтенсивных миллиметровых волн на биологические объекты // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2001. — № 3. — С. 5-18.*
4. *Бышевский А.Ш., Кожевников В.Н. Свертываемость крови при реакции напряжения. — Свердловск, 1986.*
5. *Волин М.С., Дэвидсон К.А., Каминска П.М. Механизмы передачи сигнала оксидант-оксид азота в сосудистой ткани // Биохимия. — 1998. — № 63. — С. 958-965.*
6. *Журавлёва И.А., Виноградова Н.А. Роль окиси азота в кардиологии и гастроэнтерологии // Клин. мед. — 1997. — № 4. — С. 18-21.*
7. *Иванов С.Г. О сравнительной эффективности немедикаментозных и лекарственных методов лечения гипертонической болезни // Тер. архив. — 1993. — № 1. — С. 44-47.*
8. *Киричук В.Ф., Волин М.Ф., Креницкий А.П. и соавт. Тромбоциты в реакциях системы гемостаза на КВЧ-воздействия. — Саратов: СГМУ, 2002.*
9. *Киричук В.Ф., Малинова Л.И., Креницкий А.П. и соавт. Гемореология и электромагнитное излучение КВЧ-диапазона. — Саратов: СГМУ, 2003.*
10. *Киричук В.Ф., Креницкий А.П., Майбородин А.В. и соавт. Оксид азота и электромагнитные излучения КВЧ // Биомед. технологии и радиоэлектроника. — 2002. — № 10. — С. 95-108.*
11. *Киричук В.Ф., Антипова О.Н., Креницкий А.П. и соавт. Характер сдвигов в активности тромбоцитов белых крыс, находящихся в состоянии иммобилизационного стресса, под влиянием КВЧ-облучения на частотах оксида азота // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2004. — № 2. — С. 49-56.*

12. *Киричук В.Ф., Креницкий А.П., Майбородин А.В. и соавт. Панорамно-спектрометрический комплекс для исследования тонких структур молекулярных спектров физических и биологических сред // Биомед. технологии и радиоэлектроника. — 2001. — № 8. — С. 35-47.*
13. *Клещев А.Л. Создание физиологически активного депо окиси азота в организме животных // Бюлл. СО АМН СССР. — 1988. — № 2. — С. 41-44.*
14. *Креницкий А.П., Киричук В.Ф., Тупикин В.Д. и соавт. Квазиоптический КВЧ генераторный комплекс моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований // Биомед. технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 2. — С. 17-24.*
15. *Лобанок Л.М., Лукша Л.С. Функциональная роль эндотелия сосудов: патофизиологические и клинические аспекты // Мед. новости. — 1999. — № 4. — С. 21-29.*
16. *Лобань-Череда Г.А., Новосельцева Т.Н. Коагуляционная способность крови и антиагрегацинная активность сосудистой стенки у крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу // Укр. физиол. журнал. — 1990. — № 36. — С. 13-18.*
17. *Логинов В.В, Русяев В.Ф. Влияние электромагнитного излучения КВЧ на эритроциты человека // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 1999. — № 1. — С. 5-21.*
18. *Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. — 1998. — № 63. — С. 992-1000.*
19. *Пономарёва Т.А., Тулебеков Б.Т., Гейн А.К. Реакция системы гемостаза и лимфоидных органов у диких животных при стрессе // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1989. — № 10. — С. 510-511.*
20. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г. NO-синтетазные и нитритредуктазные компоненты цикла оксида азота // Биохимия. — 1998. — № 63. — С. 1029-1040.*
21. *Affled K., Gadischke J., Reininger A. Thrombosis formation and flow // Int. J. Arif. Organs. — 1994. — Vol. 17. — P. 435-436.*
22. *Aiello S., Remuzzi G. Nitric oxide (endothelin balance after nephron reduction) // 1998. — Vol. 53. — P. 3-67.*
23. *Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer and medicine // Lancet. — 1994. — Vol. 343. — P. 11-12.*
24. *Bacdamann S., Mundel P. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization and function // Am. J. Kidney Dis. — 1994. — Vol. 24. — P. 112-129.*
25. *Culotta E., Kosbland D.E. NO news is good news // Science. — 1992. — Vol. 258. — P. 1862-1865.*
26. *Furchgott R.F., Jothianandan D. Endothelium-dependent and independent vasodilatation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light // Blood Vessels. — 1991. — Vol. 28. — P. 52-61.*
27. *Grabarevic Z., Seimerth S. Morphological aspects of restrant stress induced lesion in rats // Vet. arch. — 1992. — Vol. 62. — P. 553-558.*
28. *Radomsky M., Palmer R., Moncada S. An L-arginin/nitric oxide pathway present in human platelet regulation aggregation // Proc. Natl. Acad. Sci USA. — 1990. — Vol. 87. — P. 5193-5197.*
29. *Steptol A. Stress and illness // Psychologist. — 1993. — Vol. 6. — P. 76-78.*
30. *Takeda H. Stress-induced gastric mucosal lesion and platelet agregation in rats // J. Clin. Gastroenterol. — 1994. — Vol. 14. — P. 145-148.*
31. *Wu K.K. Increased platelet activation in arterial thrombotic // Lancet. — 1994. — Vol. 8. — P. 991-992.*

# КОРРЕКЦИЯ ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМИ ВОЛНАМИ НА ЧАСТОТАХ ТЕРАГЕРЦЕВОГО ДИАПАЗОНА ОКСИДА АЗОТА

*О. Н. Антипова*

*Саратовский Государственный Медицинский Университет, кафедра нормальной физиологии, Саратов*

# CORRECTION OF HEMORHEOLOGY DISORDERS BY ELECTROMAGNETIC WAVES ON TERAHERTZ WAVES FREQUENCY OF NITRIC OXIDE

*O. N. Antipova*

*State Medical University, chair of normal physiology, Saratov*

With the help of specially designed generator we have investigated the effect of electromagnetic UHF-waves at nitric oxide molecular spectrum of radiation and absorption (MSRA) on erythrocytes functions, blood viscosity of albino rats in state of immobilizing stress. The 5, 15 and 30 minutes-long UHF-radiation was demonstrated to foster various degrees of restoration of erythrocytes functions, its efficiency depending on the period of radiation. It was after 30-minutes radiation of rats that the most expressed restoration of erythrocytes functional activity was observed.

**Key words:** *UHF-waves — THz range — nitric oxide — erythrocytes hemorheology — viscosity — aggregations — deformability.*

## ВВЕДЕНИЕ

Применение КВЧ-терапии для коррекции реологических нарушений как самостоятельного метода лечения, так и в сочетании с различными медикаментозными препаратами является в настоящее время одним из актуальных вопросов современной медицины [13, 15, 21]. Выявление роли оксида азота (NO) в организме человека и животных позволяет по-новому интерпретировать молекулярные механизмы различных физиологических процессов и даёт основание для дальнейшего углубленного изучения механизмов КВЧ-воздействия с последующим экспериментальным и теоретическим обоснованием применения данного метода лечения в клинической практике [4, 34, 38, 39]. NO выполняет функции нейромедиатора, является мощным фактором гемостаза, антиагрегантом и эндогенным вазодилататором [29, 30, 34, 36, 37]. В терагерцовом диапазоне волн NO имеет 2 линию молекулярного поглощения в атмосферном воздухе, соответствующую частоте 150 ГГц.

Эндогенный NO постоянно синтезируется в организме при участии NO-синтаз — ферментов, использующих в качестве единственного субстрата аминокислоту L-аргинин [27, 39, 40]. Разработка методов физиологического регулирования синтеза NO, поддержания стабильного его уровня в клетках, органах и в целом организме представляет огромный научный и практический интерес. Наиболее изучены антигипертензивные и антиагрегационные эффекты эндогенного NO, являющиеся результатом запуска оксидом азота ряда биохимических процессов, активирующих один из важнейших внутриклеточных ферментов — гемосодержащую гидрофильную гуанилатциклазу. Поэтому в настоящее время ведутся интенсивные поиски методов по созданию фармакологических активаторов гуанилатциклазы на основе химических структур (доноров), обеспечивающих возможность образования в организме эндогенного NO, регуляции его концентрации и реакционной способности [29, 30]. Однако известно, что фармакологическая регуляция синтеза NO в организме может сопровождаться возникновением нежелательных побочных эффектов, что обуславливает необходимость поиска новых неинвазивных физических регуляторов эндогенного NO на основе естественного физиологического регулирования.

Наиболее перспективным методом с точки зрения поставленной задачи является использование низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) терагерцового диапазона волн крайне высоких частот (КВЧ). При облучении молекул энергия КВЧ излучения расходуется на переходы молекул из одного энергетического состояния в другое. Известно, что при используемых в медико-биологической практике уровнях мощности крайневысокочастотного излучения экзогенное воздействие

ЭМИ КВЧ приводит к изменению вращательной составляющей полной энергии молекул [3]. В момент совпадения частоты проводимого облучения с частотой вращения полярных молекул возможна перекачка энергии излучения молекуле, сопровождающаяся увеличением её вращательной кинетической энергии, что непосредственно влияет на её реакционную способность [3]. Вращательный молекулярный спектр поглощения и излучения NO находится в крайневысокочастотном и терагерцовочастотном (ТГЧ) диапазоне — 150,176–150,664 ГГц [2].

Результаты экспериментальных исследований в условиях in vitro по воздействию КВЧ-волн на частоте молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота на плазму, обогащенную тромбоцитами, и цельную кровь больных нестабильной и стабильной стенокардией, у которых процесс агрегации тромбоцитов и эритроцитов и реологические свойства крови нарушены, показали существенное влияние данного диапазона волн на восстановление функционального состояния кровяных пластинок, эритроцитов и реологических параметров крови [12, 13, 14]. Однако в реальных условиях кровь течёт по капиллярам, в связи с чем уменьшается время и энергия взаимодействия ЭМИ с форменными элементами крови, что зависит от скорости кровотока и поглощающего слоя кожи и сосудов. Поэтому одной из актуальных и сложных задач, требующих большого объёма экспериментальных работ, является проведение комплекса исследований взаимодействия молекулярных КВЧ и ТГЧ спектров излучения и поглощения с биологическими объектами в условиях целостного организма.

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния ТГЧ облучения на частотах молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота (150,176–150,664 ГГц) на реологические показатели крови при экспериментальной стресс-реакции, вызванной у белых крыс.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной задачи проводили изучение образцов цельной крови 75 белых крыс-самцов массой 180–220 г. В качестве модели, имитирующей нарушение реологических свойств крови у больных нестабильной и стабильной стенокардией, мы использовали иммобилизационный стресс: жёсткую фиксацию крыс в положении на спине в течение трех часов [1], так как у больных с указанной патологией и при экспериментальном иммобилизационном стрессе нарушения реологических свойств крови аналогичны — повышена вязкость крови, усилена агрегация эритроцитов [6, 8, 9, 10, 11, 22, 35, 41, 42, 50]. Исследование включало 5 серий экспериментов: 15 интактных крыс — группа контроля; 15 животных, находящихся в состоянии иммобилизационного стресса, и по 15 животных в группах, подвергавшихся облучению. Облучение животных, находящихся в состоянии иммобилизационного стресса, проводили с помощью малогабаритного, переносного медицинского аппарата «КВЧ-NO», разработанного в Медико-технической ассоциации КВЧ (Москва) совместно с ФГУП «НПП Исток» и ОАО ЦНИИИА (Саратов).

Воздействие электромагнитными колебаниями ТГЧ диапазона волн крайневысокой частоты проводили на предварительно выбритую поверхность кожи над областью мечевидного отростка грудины в режиме амплитудной модуляции сигнала на частоте 150,176–150,664 ГГц в течение 5, 15 и 30 минут.

Отбор проб крови осуществляли пункцией правых отделов сердца. В качестве стабилизатора крови использовали раствор гепарина (в дозе 40 ЕД/мл), считая применение в качестве стабилизатора крови 3,8 % раствора цитрата натрия нецелесообразным, поскольку в соотношении 9:1 он вызывает гемодилюцию и искажает результаты [19]. Реологические свойства цельной крови исследовали в образцах объемом 0,85 мл с помощью ротационного вискозиметра АКР-2 со свободно плавающим цилиндром [15]. Методика ротационной вискозиметрии наиболее соответствует требованиям, предъявляемым к оценке реологических свойств крови [7,17,19], и выполнена в соответствии с Ярославским соглашением (Ярославль, 2003). Вязкость цельной крови определяли при скоростях сдвига 300, 200, 150, 100, 50 и 20 $с^{-1}$. На основании полученных данных вычисляли индексы агрегации (ИАЭ) и деформируемости эритроцитов (ИДЭ) [24]. Эксперименты на животных проводили в соответствии с требованиями Женевской конвенции «*International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*» (Geneva, 1990). Статистическую обработку результатов осуществляли средствами программы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведённого исследования свидетельствовали о статистически достоверном увеличении вязкости цельной крови как при малых, так и при

*Таблица 1.*

**Изменение вязкости цельной крови (в мПа$_*$с) у крыс-самцов при экспериментальной стресс-реакции и различных временных режимах облучения ЭМИ КВЧ частотой молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота (M+m)**

| Скорость сдвига | Контроль (*n=15*) | Иммобилизационный стресс (*n=15*) | Стресс совместно с облучением в течение (минут) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 5 (*n=15*) | 15 (*n=15*) | 30 (*n=15*) |
| 300 $с^{-1}$ | 2,4±0,047 | 3,3±0,331<br>$p_1<0,05$ | 3,2±0,306<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$ | 2,6±0,163<br>$p_1>0,05$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$ | 2,5±0,158<br>$p_1>0,1$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$<br>$p_4>0,1$ |
| 200 $с^{-1}$ | 2,4±0,047 | 3,3±0,331<br>$p_1$ <0,05 | 3,2±0,306<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$ | 2,6±1,163<br>$p_1>0,05$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$ | 2,5±0,158<br>$p_1>0,1$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$<br>$p_4>0,1$ |
| 150 $с^{-1}$ | 2,4±0,061 | 3,3±0,332<br>$p_1<0,05$ | 3,2±0,309<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$ | 2,6±1,163<br>$p_1>0,05$<br>$p_2$,<0,05<br>$p_3<0,05$ | 2,5±0,136<br>$p_1>0,1$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$<br>$p_4>0,1$ |
| 100 $с^{-1}$ | 2,5±0,092 | 3,6±0,390<br>$p_1<0,05$ | 3,5±0,314<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$ | 2,8±0,149<br>$p_1>0,05$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$ | 2,6±0,085<br>$p_1>0,1$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$<br>$p_4>0,1$ |
| 50 $с^{-1}$ | 2,8±0,191 | 4,3±0,480<br>$p_1<0,05$ | 4,2±0,884<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$ | 3,5±0,314<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$<br>$p_3>0,05$ | 3,0±0,247<br>$p_1>0,1$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$<br>$p_4>0,1$ |
| 20 $с^{-1}$ | 3,3±0,420 | 5,2±0,700<br>$p_1<0,05$ | 5,0±0,670<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$ | 4,2±0,880<br>$p_1<0,05$<br>$p_2>0,05$<br>$p_3>0,05$ | 3,5±0,350<br>$p_1>0,1$<br>$p_2<0,05$<br>$p_3<0,05$<br>$p_4>0,1$ |

*Примечание: $p_1$ — по сравнению с группой контроля; $p_2$ — по сравнению с группой животных в состоянии иммобилизационного стресса; $p_3$ — по сравнению с группой животных, подвергнутых 5 минутному КВЧ облучению на фоне стресса; $p_4$ — по сравнению с группой животных, подвергнутых 15 минутному КВЧ облучению на фоне стресса.*

больших скоростях сдвига у крыс при иммобилизационном стрессе по сравнению с данными контрольной группы животных (**табл. 1**). Индексы агрегации (ИАЭ) и деформируемости эритроцитов (ИДЭ) также статистически достоверно (*p<0,05*) увеличивались по сравнению с группой контроля (**табл. 2**).

Воздействие КВЧ излучения в режиме амплитудной модуляции сигнала на частоте молекулярного спектра излучения и поглощения NO (150,176–150,664 ГГц) в течение 5 минут на животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса, не вызывало значительных изменений исследуемых показателей реологии крови — вязкости, агрегации и деформируемости эритроцитов. Об этом свидетельствовало отсутствие статистически достоверных различий гемореологических показателей крови данной группы по сравнению с группой животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса. В то же время отмечали статистически значимые различия исследуемых показателей по сравнению с данными контрольной группы (**табл. 1, 2**).

Анализ результатов исследования реологических свойств крови животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса и подвергшихся воздействию КВЧ-облучения на частоте молекулярного спектра излучения и поглощения NO в течение 15 и 30 минут, установил полное восстановление вязкости крови при различных скоростях сдвига, способности эритроцитов к агрегации и их деформируемости. Это подтверждалось отсутствием статистически достоверных различий исследованных параметров реологии крови по сравнению с группой контроля (**табл. 1** и **2**).

*Таблица 2.*

**Функциональные свойства эритроцитов у крыс-самцов при иммобилизационном стрессе под влиянием различных режимов облучения ЭМИ КВЧ частотой молекулярного спектра излучения и поглощения оксида азота (M+m)**

| Показатели | Контроль (*n = 15*) | Иммобилизационный стресс (*n = 15*) | Стресс совместно с облучением в течение (минут) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 5 (*n = 15*) | 15 (*n = 15*) | 30 (n=15) |
| Индекс агрегации эритроцитов (усл.ед.) | 1,31±0,015 | 1,46±0,017<br>$p_1<0{,}05$ | 1,42±0,009<br>$p_1<0{,}05$<br>$p_2>0{,}1$ | 1,37±0,021<br>$p_1>0{,}05$<br>$p_2<0{,}05$<br>$p_3<0{,}05$ | 1,34±0,008<br>$p_1>0{,}05$<br>$p_2<0{,}05$<br>$p_3<0{,}05$<br>$p_4>0{,}05$ |
| Индекс деформируемости эритроцитов (усл.ед.) | 1,05±0,009 | 1,11±0,019<br>$p_1<0{,}05$ | 1,10±0,015<br>$p_1<0{,}05$<br>$p_2>0{,}1$ | 1,06±0,002<br>$p_1>0{,}05$<br>$p_2<0{,}05$<br>$p_3<0{,}05$ | 1,06±0,005<br>$p_1>0{,}05$<br>$p_2<0{,}05$<br>$p_3<0{,}05$<br>$p_4>0{,}05$ |

*Примечание: $p_1$ — по сравнению с группой контроля; $p_2$ — по сравнению с группой животных в состоянии иммобилизационного стресса; $p_3$ — по сравнению с группой животных подвергнутых, 5-минутному КВЧ облучению на фоне стресса; $p_4$ — по сравнению с группой животных подвергнутых, 15-минутному КВЧ облучению на фоне стресса.*

## ОБСУЖДЕНИЕ

Реологические свойства крови, как известно, характеризуются условиями потока, при которых существует её течение, определяемое геометрией сосуда и градиентом давления, потоковыми свойствами форменных элементов (в основном, эритроцитов): их способностью к упругой деформации и агрегации, взаимодействию с высокомолекулярными белками и всеми осмотически активными компонентами, вязкостью крови [7, 19, 28, 46]. Известно, что на агрегацию и деформируемость эритроцитов оказывают влияние белки плазмы крови. Так, фибриноген и продукты его деградации, сорбируясь на эритроцитарной мембране, приводят к агрегации и одновременно к увеличению деформируемости эритроцитов. Считается, что увеличение деформируемости эритроцитов в плазме с высоким содержанием фибриногена и продуктов его деградации является защитным механизмом организма, препятствующим резкому нарушению текучести крови. В результате проведённых экспериментальных исследований у самцов белых крыс при наличии у них иммобилизационного стресса было обнаружено значительное повышение вязкости цельной крови при больших и малых скоростях сдвига, возрастание агрегации эритроцитов и их способности к деформации. Полученные нами результаты об увеличении способности эритроцитов к агрегации и возрастании их деформируемости при иммобилизационном стрессе не противоречат данным, полученными другими авторами при различных патологических состояниях, и могут объясняться нарастанием в крови как фибриногена, так и продуктов его деградации вследствие повышения фибринолитического потенциала крови [20, 32, 33, 43, 44, 49].

Данные многочисленных литературных публикаций, посвящённых исследованию роли NO в организме млекопитающих, свидетельствуют, в том числе, о его важной функции активного клеточного регулятора-мессенджера в гемореологических и микроциркуляторных процессах [25,26]. Под влиянием NO происходит снижение агрегационной способности эритроцитов в условиях *in vitro* и *in vivo* [48]. Важный реологический показатель — деформируемость эритроцитов, изменение которого является одним из факторов, определяющих доставку кислорода в ткани [45, 47], существенным образом зависит от концентрации NO, который является фактором, опосредующим снижение деформационной способности мембран эритроцитов [31]. Под влиянием NO происходит изменение геометрических параметров сосудов вследствие их дилатации [34, 35, 36, 37, 38]. Таким образом, уровень эндогенного NO и его синтез в организме во многом определяет реологические свойства крови.

При длительных стрессорных воздействиях происходит снижение продукции эндогенного NO, что позволяет предположить уменьшение его регуляторных функций [23]. У животных, подвергавшихся иммобилизационному стрессу, под действием электромагнитного излучения на частоте молекулярного спектра излучения и поглощения NO происходило восстановление показателей реологии крови, в том числе характеризующих процесс агрегации эритроцитов и их способность к деформации, что, по-видимому, было обусловлено либо повышением реакционной способности свободного эндогенного NO, либо возрастанием его концентрации за счёт воздействия ЭМИ КВЧ непосредственно на ферменты NO-синтазы и их катализации [14]. Кроме того, одним из факторов, препятствующих процессу агрегации эритроцитов в потоке крови, является наличие сил электростатического отталкивания [19, 28]. Антиагрегационный эффект электромагнитных излучений КВЧ диапазона на частоте молекулярного спектра излучения и поглощения NO может быть связано с их способностью стабилизировать мембрану эритроцитов [16, 18, 21].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании представленных данных можно сделать вывод о положительном влиянии КВЧ-воздействия на частоте молекулярного спектра излучения и поглощения NO (150,176–150,664 ГГц) на реологические свойства крови у животных, находившихся в состоянии иммобилизационного стресса. Наиболее эффективными в восстановлении показателей реологии крови являются 15 и 30 минутные режимы облучения. При 5 минутном режиме облучения положительный эффект на показатели, характеризующие реологические свойства крови, был выражен незначительно.

Результаты, полученные на экспериментальных животных, позволяют экстраполировать их на больных стабильной и нестабильной стенокардией, и ставить вопрос о клиническом испытании нового метода КВЧ-терапии, так как используемый в настоящее время комбинированный метод КВЧ-терапии на частотах 42,2 и 53,5 ГГц в кардиологической практике не только не нормализует показатели реологических свойств крови у больных с различными формами стенокардии, а, напротив, их усугубляет и требует дополнительной корригирующей терапии [5, 15]. Полученные данные могут в определённой мере служить подтверждением высказанного нами предположения о том, что применение ЭМИ КВЧ на частоте оксида азота является естественным физиологическим регулятором функций эндогенного NO.

## ЛИТЕРАТУРА


1. *Антонов А.М., Беликина Н.В., Георгиева С.А. и соавт. Адаптационные реакции организма и система свёртывания крови // Тез. научн. сообщений X съезда Всесоюзного физиол. общества им. И.П. Павлова. — Ереван, 1964. — Т. 2, № 1. — С. 47.*
2. *Башаринов А.Е., Тучков Л.Г., Поляков В.М., Аланов Н.И. Измерение радиотепловых и плазменных излучений в СВЧ-диапазоне. — М.: Советское радио, 1968.*
3. *Бецкий О.В., Девятков Н.Д., Кислов В.В. Миллиметровые волны низкой интенсивности в биологии и медицине // Биомедицинская радиоэлектроника. — 1998. — № 4. — С. 13-29.*
4. *Волин М.С., Дэвидсон К.А., Каминска П.М. и соавт. Механизмы передачи сигнала оксидант — оксид азота в сосудистой ткани // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 958-965.*
5. *Ганелина И.Е., Степанова Т.А., Катюхин А.Н. Электромагнитное излучение диапазона крайне высоких частот в комплексной терапии тяжёлой стенокардии // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 1994. — № 4. — С. 17-21.*
6. *Головачёва Т.В., Петрова В.Д., Паршина С.С. и соавт. Электромагнитное излучение миллиметрового диапазона как метод патогенетической терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2000. — Т. 1, № 17. — С. 18-25.*
7. *Дементьева И.И., Ройтман Е.В. Экспресс-диагностика реологических свойств крови у кардиохирургических больных. — Метод. рекомендации: М., 1995.*
8. *Катюхин Л.Н., Скверчинская Е.А., Ганелина И.Б., Степанова Т.А. Реологические свойства крови при остром инфаркте миокарда // Кардиология. — 1999. — № 4. — С. 41-44.*
9. *Киричук В.Ф., Воскобой И.В. Антитромбогенная активность сосудистой стенки, гемостаз и реологические свойства крови у больных нестабильной стенокардией и гиперлипопротеимией различных типов // Терапевтический архив. — 2000. — Т. 72, № 12. — С. 47-50.*
10. *Киричук В.Ф., Осипова О.В., Никитина Н.М., Баранов Н.А. Нарушения текучести крови и их выявление при ишемических состояниях. Ротационная вискозиметрия // Метод. рекомендации. — Саратов: СарГМУ, 1998. — 27 с.*
11. *Киричук В.Ф., Воскобой И.В., Ребров А.П. Взаимосвязь антитромбогенной активности стенки сосудов и свойств крови у больных нестабильной стенокардией // Гемостаз, тромбоз и реология. — 2001. — № 1. — С. 31-34.*
12. *Киричук В.Ф., Волин М.В., Креницкий А.П. и соавт. Тромбоциты в реакциях системы гемостаза на КВЧ-воздействие. — Саратов: СарГМУ, 2002.*

13. Киричук В.Ф., Малинова Л.И., Креницкий А.П. и соавт. Реология крови и КВЧ-воздействие. — Саратов: СарГМУ, 2003.
14. Киричук В.Ф., Креницкий А.П., Майбородин А.В. и соавт. Оксид азота и электромагнитное излучение КВЧ // Биомед. технологии и радиоэлектроника. — 2002. — Т. 10. — С. 95-108.
15. Киричук В.Ф., Малинова Л.И., Майбородин А.В. и соавт. Гемореология больных стабильной стенокардией. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона // Биомед. технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 2. — С. 4-16.
16. Крылов В.Н., Дерюгина А.В. Влияние КВЧ-воздействия на электрофоретическую подвижность эритроцитов // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2000. — № 2. — С. 5-7.
17. Кручинский Н.Г., Тепляков А.И., Гапонович В.Н. Экспресс-оценка реологических свойств крови и методы коррекции их нарушений у пациентов с атеросклерозом. — Метод. рекомендации: Минск, 2000.
18. Кузьманова М., Иванов Ст. Влияние миллиметровых волн и гамма-радиации на поверхностный электрический заряд мембран эритроцитов // В кн.: «Миллиметровые волны в медицине и биологии». — М.: ИРЭ РАН, 1995. — С. 111-112.
19. Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрина Н.Х. Реология крови. — М.: Медицина, 1982.
20. Лобань-Череда Г.А., Новосельцева Т.Н. Коагуляционная способность крови и антиагрегационная активность сосудистой стенки у крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу // Укр. физиол. журнал. — 1990. — Т. 36, № 2. — С. 13-18.
21. Логинов В.В., Русяев В.Ф., Туманянц Б.Н. Влияние электромагнитного излучения КВЧ на эритроциты человека (in vitro) // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 1999. — № 1. — С. 17-21.
22. Никитина Н.М., Киричук В.Ф., Егорова А.Н. Состояние антитромбогенной активности сосудистой стенки у больных стабильной стенокардией. Взаимосвязь с гемореологическими нарушениями // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2002. — Т. 2, № 10. — С. 33-37.
23. Малышев Ю.И., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 992-1006.
24. Парфенов А.С., Пешков А.В., Добровольский Н.А. Анализатор крови реологический АКР — 2. Определение реологических свойств крови. — Метод. рекомендации: М., 1994.
25. Реутов В.П. Биохимическое предопределение NO-синтетазной и нитритредуктазной компонент цикла оксида азота // Биохимия. — 1999. — Т. 64, № 5. — С. 634-651.
26. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 1029-1040.
27. Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных физиологических состояниях // Биохимия. — 2000. — Т. 65, № 4. — С. 485-503.
28. Ройтман Е.В., Фирсов Н.Н., Дементьева М.Г. и соавт. Термины, понятия и подходы к исследованию реологии крови в клинике // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2000. — № 3. — С. 5-12.
29. Северина И.С. Растворимая форма гуанилатциклазы в молекулярном механизме физиологических эффектов окиси азота и в регуляции процесса агрегации тромбоцитов // Бюл. эксперим. биол. мед. — 1995. — № 3. — С. 230-235.
30. Северина И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов окиси азота // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 939-997.
31. Bateman R.M. Erythocyte deformability is a nitric oxide-mediated factor in decreased capillary density during sepsis // Am. J. Physiol. — 2001. — Vol. 280, № 6. — P. 2848-2856.
32. Brill G.E., Kiritchuk V.F., Martinov L.A., Bespalova T.A. Preventive action of low power laser irradiation on hemocoagulation disturbances in pathological stress // Laser in Medicine and Surgery. — 1995. — Vol. 11, № 2. — P. 108-110.
33. Brill G.E., Kiritchuk V.F., Bespalova T.A. The influence of He-Ne laser irradiation on hemocoagulation and fibrinolitic activity in stress // Light and Biological Systems. International conf. — Wroclaw: Poland, 1995. — P. 65-67.
34. Furchgott R.F., Jothianandan D. Endothelium-dependent and -independent vasodilation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light // Blood Vessels. — 1991. — Vol. 28. — P. 52-61.
35. Gustavsson C.G., Person S.U., Larson H., Person S. Changed blood rheology in patients with idiopatic dilated cardiomyopaty // Angiology. — Vol. 2. — P. 107-111.
36. Ignarro L.G. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 1990. — Vol. 30. — P. 535-560.
37. Ignarro L.G., Buga G.M., Wood K.S. et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide // Proc. Nat. Acad. Shi. USA. — 1987. — Vol. 84. — P. 9265-9269.
38. Ignarro L.G., Lippton H., Edwards J.C. et al. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates,

nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates // J. Pharmacol. Exp. Ther. — Vol. 218. — P. 739-749.
39. Ignarro L.G., Murad F. Nitric oxide: biochemistry, molecular biology and therapeutic implication // Adv. Pharmacol. — 1995. — Vol. 34. — P. 1-516.
40. Ignarro L.G., Wood K.S. Activation of purified soluble guanylate cyclase by arachidonic acid requires absence of enzyme-bound heme // Bichem. Biophys. Acta. — 1987. — Vol. 928. — P. 160-170.
41. Kirichuk V.F., Voscoboy I.V. Interconnection of in functional state of platelets, antithrombogen activity of the vascular wall and rheologic properties of blood in patients with unsable angina // 14 International Congress on Thrombosis. — Montpellier: France, 1996. — P. 35.
42. Kirichuk V.F., Voscoboy I.V. Aggregation of erythrocytes and their deformation ability in IHD patients with different dlood anticoagulation level // 16 Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis. — Florence: Italy, 1997. — P. 459.
43. Kowabata A., Hata T. Characterization of platelet hypofunction in rats under SART stress (repeated cold stress) // Thromb. Res. — Vol. 69, № 2. — P. 197-207.
44. Naesh O., Haedersdal C., Hindberg J. Platelet activation in mental stress // Clin. Phisiol. — Vol. 13, № 3. — P. 299-307.
45. Parthasarathi K., Lipowsky H.H. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cells deformability // Am. J. Physiol. — 1999. — Vol. 277. — P. 2145-2157.
46. Sakuta S., Takamats S., Shikano. Determination of deformability index // Microvasc. — 1982. — Vol. 24, № 2. — P. 215-221.
47. Simchon S., Jan K. M., Chein S. Influence of reduced red cells deformability on regional blood flow // Am. Phisiol. — 1987. — Vol. 253. — P. 898-903.
48. Starzik D. Effects of nitric oxide and prostacycline on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro // J. Physiol. Pharmacol. — 1999. — Vol. 50. — P. 629-637.
49. Takeda H. Stress-induced gastric mucosal lesion and platelet aggregation in rats // J. Clin. Gastroenterol. — 1992. — Vol. 14, № 11. — P. 145-148.
50. Tozzi-Ciancarelli M.C., Di-Massino C., Masicioli A. Rheological features of erythrocytes in acute myocardial infraction // Cardioscience. — 1993. — Vol. 4. — P. 231-234.

# ТРОМБОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОВАЗИМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Е. В. Вышлов[1], М. Б. Плотников[2], Г. А. Чернышева[2], О. И. Алиев[2], М. Ю. Маслов[2], О. В. Гришин[3], Е. И. Верещагин[4], А. В. Троицкий[4], В. А. Марков[1]*

*НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН[1], НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН[2], Томск; Сибирский центр фармакологии и биотехнологии[3], Институт цитологии и генетики СО РАН[4], Новосибирск*

# THROMBOVAZIM THROMBOLYTIC ACTIVITY IN ANIMAL'S MODEL

*E. V. Vyshlov[1], M. B. Plotnikov[2], G. A. Thernyshova[2], O. I. Aliev[2], M. Y. Maslov[2], O. V. Grishin[3], E. I. Vereshagin[4], A. V. Troitsky[4], V. A. Markov[1]*

*Tomsk Cardiology Research Institute[1]; Tomsk Pharmacology Research Institute[2]; Siberian Center of Pharmacology and Biotechnology[3], Novosibirsk; Novosibirsk Research Institute of Cytology and Genetics[4]*

Thrombovazim is a new thrombolytic agent prepared by immobilization of Bacillus subtilis proteolytic ferments to polyethylenoxide 1500. The aim of this study was to investigate thrombovazim′s thrombolytic activity in rats. Thrombovazim i.v. infusion led in decreasing of fibrinogen plasma level, to increasing of euglobulin fibrinolysis activation and plasminogen concentration. Thrombovazim i.v. infusion during of thrombus forming period in carotid artery decreased the part of rats with thrombus in carotid artery and number of rats with total occlusion of carotid artery.

**Key words:** *thrombovazim — thrombus — thrombolysis — rats*

## ВВЕДЕНИЕ

В рамках стратегии создания отечественного безопасного и эффективного тромболитика в Институте цитологии и генетики СО РАМН при участии Института ядерной физики СО РАН (Новосибирск) разработано новое тромболитическое средство Тромбовазим, основой которого являются бактериальные протеиназы из широко известного непатогенного штамма Bacillus subtilis. Протеиназы являются чужеродным белком для человеческого организма, поэтому они иммобилизированы методом электронно-лучевой технологии на биологически и химически инертном носителе, широко применяемом в медицине — водорастворимом полимере полиэтиленоксиде 1500. «Предшественником» Тромбовазима является разработанный в 70-х годах прошлого столетия лекарственный препарат «Имозимаза», который используется в хирургии как протеолитический препарат. В дальнейшем у имозимазы было обнаружено мощное тромболитическое действие *in vitro* и *in vivo* [1]. Это послужило поводом для создания нового тромболитического препарата, ориентированного на лечение кардиоваскулярной патологии. Технологические особенности получения Тромбовазима логически развивают и усовершенствуют метод радиационной иммобилизации. В настоящее время в Новосибирске на базе ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии» уже создано промышленное производство Тромбовазима.

Цель работы: оценка тромболитической активности тромбовазима на модели тромбоза и исследование влияния тромбовазима на показатели гемостаза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первая часть исследования проведена на 19 крысах-самцах Вистар массой 220–240 г. под этаминал-натриевым наркозом. Кровоток в правой и левой общих сонных артериях измеряли с помощью электромагнитных расходомеров крови MFV-1100 и MFV-2100 (Nihon Kohden, Япония). У крыс опытной (*n=10*) и контрольной (*n=9*) групп тромбоз моделировали аппликацией на левую сонную артерию 10% раствора хлорида железа на протяжении 15 минут [2]. Через 5 минут после удаления хлорида железа крысам опытной группы вводили тромбовазим в дозе 70 ЕД внутрибрюшинно и 10 ЕД внутривенно инфузией в течение 10 минут. Крысам контрольной группы после удаления аппликации вместо тромбовазима вводили эквиобъемное количество физиологического раствора внутрибрюшинно и внутривенно. Кровоток регистрировали в течение 90 минут от момента начала аппликации. Через 24 часа у крыс под эфирным наркозом вновь измеряли кровоток по сонным артериям, и после эвтаназии (передозировка эфирного наркоза) вырезали сегменты правой и левой общих сонных артерий для определения массы тромба.

Вторая часть исследования была проведена на 18 крысах-самцах Вистар массой 220–240 г. Крысам опытной группы (*n=10*) тромбовазим вводили в дозе 70 ЕД внутрибрюшинно и 10 ЕД внутривенно. Животные контрольной группы (*n=8*) получали эквиобъемное количество физиологического раствора внутрибрюшинно и внутривенно. Кровь для исследования отбирали через 1 час после введения тромбовазима или физиологического раствора методом катетеризирования общей сонной артерии. Животные находились под эфирным наркозом. В качестве стабилизатора использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении с кровью 1:9.

Содержание фибриногена в плазме крови определяли на гемокоагулометре "Cormay KG-4" с использованием набора реактивов «Тех-фибриноген тест» фирмы «Технология-стандарт». Фибринолитическую активность оценивали методом определения спонтанного эуглобулинового фибринолиза с использованием набора «Фибринолиз-тест»; определение плазминогена проводили с использованием набора «ХромоТех-Плазминоген» производства «Технология-Стандарт». Агрегацию тромбоцитов, вызванную индуктором АДФ в концентрации $1{\cdot}10^{-6}$ М, измеряли на анализаторе агрегации тромбоцитов АТ-02, агрегатограммы регистрировали на самописце Recorder 2210.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ "Statistica for Windows 5.0". Рассчитывали средние значения показателей и стандартную ошибку среднего значения. Межгрупповые различия оценивали с использованием t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия $X^2$ (хи-квадрат).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При моделировании тромбоза в контрольной группе крыс после наложения хлорида железа наблюдали прогрессивное снижение кровотока в левой сонной артерии, достигавшее к 75 минутам 64% опыта (**табл. 1**). Через 90 минут среднее значение кровотока было в 3,7 раза ниже исходной величины, и у 25% крыс установлена полная окклюзия сонной артерии. В правой сонной артерии наблюдалось компенсаторное повышение кровотока (на 65–72%) в период с 45 по 90 минут. Через 24 часа количество животных

*Таблица 1.*

**Влияние тромбовазима на кровоток (мл/мин) по сонным артериям после аппликации хлорида железа (0–15 мин) на левую сонную артерию крыс**

| Группа | Общая сонная артерия | Исходные значения | 15 минут | 30 минут | 45 минут | 60 минут | 75 минут | 90 минут |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Контроль (*n=9*) | левая | 3,3±0,4 | 2,6±0,6 | 2,8±0,9 | 2,1±0,7 | 2,3±0,7 | 1,2±0,4 | 0,9±0,3 |
| | правая | 3,2±0,5 | 3,5±0,6 | 5,1±0,8 | 5,3±0,8 | 5,5±0,8 | 5,5±0,6 | 5,3±0,5 |
| Тромбовазим (*n=10*) | левая | 3,8±0,3 | 3,3±0,5 | 2,7±0,5 | 1,7±0,4 | 1,6±0,3 | 1,6±0,4 | 1,8±0,5 |
| | правая | 3,4±0,4 | 3,9±0,4 | 3,6±0,7 | 2,6±0,4* | 2,5±0,4* | 2,9±0,5* | 2,8±0,4* |

*Примечание: * p<0,05 — различия между группами достоверны.*

*Таблица 2.*

**Влияние на показатели тромболитической активности крыс после аппликации хлорида железа (0–15 мин)**

| Группа | Количество крыс с полной окклюзией (%) | | Количество крыс с тромбом в левой | Масса тромба через 24 часа (мг) |
|---|---|---|---|---|
| | 90 минут | 24 часа | | |
| Контроль (*n=9*) | 25 | 63 | 88 | 3,0±0,5 |
| Тромбовазим (*n=10*) | 22 | 22* | 33* | 1,8±0,5 |

*Примечание: * p<0,05 — различия между группами достоверны.*

*Таблица 3.*

**Показатели гемостаза у крыс после введения физиологического раствора и тромбовазима.**

| Показатель | Группа контроля (*n=8*) | Группа тромбовазима (*n=10*) | *p* |
|---|---|---|---|
| Фибриноген (г/л) | 3,98±2,7 | 2,19±1,4 | <0,05 |
| Спонтанный эуглобилиновый фибринолиз (мин.) | 229±17 | 162±23 | <0,05 |
| Концентрация плазминогена (%) | 100±6 | 141±17 | <0,05 |
| Агрегация тромбоцитов (%) | 41±3 | 30±5 | нд |

с полным отсутствием кровотока по левой сонной артерии возрастало до 63%, а наличие тромба в просвете артерии выявлено у 88% крыс (**табл. 2**).

Исходные значения кровотока в сонных артериях у крыс, получавших тромбовазим, достоверно не отличались от значений в контрольной группе. У крыс опытной группы также выявлено прогрессивное, хотя и менее выраженное снижение кровотока в левой артерии, которое начиналось с 45 минут и продолжалось до 90 минут наблюдения. К 90 минутам эксперимента доля животных с полной окклюзией сонных артерий в опытной группе составила 22% и существенно не отличалась контрольной величины. Вместе с тем, через 24 часа доля животных с отсутствием кровотока составила 22%, а наличие тромба выявлено лишь у 33% животных; оба показателя были достоверно ниже, чем соответствующие значения в контрольной группе, а средняя масса тромба была на 40% меньше, чем в контроле (*0,05<p<0,1*).

После введения тромбовазима содержание фибриногена было в 1,8 раза ниже, чем в контрольной группе (**табл. 3**). Наблюдалось усиление фибринолитической активности крови: время спонтанного эуглобулинового лизиса уменьшалась на 29%; наряду с этим отмечено повышение концентрации плазминогена на 40%. Агрегация тромбоцитов после введения тромбовазима была ниже, чем в контрольной группе: 30±5% против 41±3%, но это различие не было статистически достоверно.

Таким образом, при введении тромбовазима после начала формирования тромба в сонной артерии крыс выявлено, что через 24 часа достоверно и существенно (в 3 раза) снижалась доля животных с полной окклюзией сонной артерии и наличием в ней тромба, что свидетельствовало о выраженной тромболитической активности препарата при лечебном применении. Учитывая, что при этом не происходило потребления плазминогена, тромбовазим можно отнести к тромболитикам «неактиваторного» типа, в отличие от стрептокиназы и тканевого активатора плазминогена, которые активируют плазминоген, переводя его в плазмин. Вероятно, протеиназы тромбовазима сами выполняют роль плазмина, непосредственно разрушая нити фибрина. Частично тромбовазим лизирует и молекулы фибриногена, так как его содержание после введения тромбовазима снижалось, хотя и не было таким катастрофичным, как бывает после введения стрептокиназы, когда на некоторое время развивается системное литическое состояние [3]. Поэтому тромбовазим можно определить как относительно фибринспецифичный тромболитик.

После введения тромбовазима концентрация плазминогена не только не снижалась, но даже достоверно повышалась, что трудно объяснить увеличением его синтеза за такой короткий промежуток времени. Вероятно, тромбовазим обеспечивает его мобилизацию из тканей, прежде всего из печени, где он синтезируется. Так как плазминоген является главным компонентом эуглобулиновой фракции [4], повышение его концентрации может быть одним из факторов, обеспечивающих ускорение эуглобулинового фибринолиза. Таким образом, тромбовазим не только сам выступает в качестве экзогенного «дублера» плазмина, но и обеспечивает повышение потенциала собственной фибринолитической системы организма.

В отличие от стрептокиназы, которая при внутривенном введении повышает агрегацию тромбоцитов [5], тромбовазим снижает агрегационную активность тромбоцитов, то есть обладает более широким противотромботическим спектром действия. В перспективе это является немаловажным преимуществом тромбовазима, так как может снижать риск повторных тромбозов.

На «заре» тромболитической эры одним из первых препаратов для этой цели изучался трипсин, то есть протеолитический фермент с широким спектром действия [6, 7]. Исследования на животных (кроликах и собаках) показали тромболитическую эффективность больших доз трипсина при его внутривенном введении. Трипсин был первым препаратом, который пытались использовать в клинике в качестве тромболитика у больных острым инфарктом миокарда [8]. Но побочные явления при его внутривенном введении (пирогенные реакции, прокоагулянтное действие, шоковые реакции при быстром введении) оказались более значимы, чем терапевтический эффект. Разработка тромбовазима — это попытка создания тромболитического препарата также на основе протеиназ широкого спектра действия, но уже на более высоком технологическом уровне. Результаты настоящей работы дают основания для продолжения исследований этого препарата и поиску его места в клинической практике.

## ВЫВОДЫ

1. При введении тромбовазима в дозе 80 ЕД (внутривенно+внутрибрюшинно) в период формирования тромба в сонной артерии крыс выявлено, что через 24 часа достоверно и существенно (в 3 раза) снижается доля животных с полной окклюзией сонной артерии и наличием в ней тромба.
2. Введение тромбовазима крысам в дозе 80 ЕД (внутривенно+внутрибрюшинно) вызывает снижение концентрации фибриногена плазмы, ускорение эуглобулинового фибринолиза и повышение концентрации плазминогена.

## ЛИТЕРАТУРА


1. *Троицкий А.В., Гуляева Е.П., Богданова Л.А. и соавт. Электронно-лучевые технологии в фармакологии. Гидрофильные гели полиэтиленоксида и иммобилизированные ферменты // «Наука производству». — ИЯФ СО РАН: Новосибирск, 2003. — № 7. — С. 40-43.*
2. *Масименко А.В., Тищенко Е.Г. Антиоксидантная биотерапия для защиты сосудистой стенки производными супероксиддисмутазы и каталазы // Цитология. — 1999. — Т. 41. — № 9. — С. 821-822.*
3. *Burket M., Smith M., Walsh T. et al. Relation of effectiveness of intracoronary thrombolysis in acute myocardial infarction to systemic thrombolytic state // Amer. J. Cardiol. — 1985. — Vol. 56. — P. 441-444.*
4. *Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и соавт. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. — Томск, 1980. — 310 с.*
5. *Fitzgerald D., Catella F., Roy L., Fitzerald G. Marked platelet activation in vivo after intravenous streptokinase in patients with acute myocardial infarction // Circulation. — 1988. — Vol. 77. — P. 142-150.*
6. *Innerfield I., Schwarz A., Angrist A. Intravenous trypsin: its anticoagulant, fibrinolytic and thrombolytic effects // J. Clin. Invest. — 1952. — Vol. 31. — P. 1049-1055.*
7. *Innerfield I., Schwarz A., Angrist A. The fibrinolytic and anticoagulant effects of intravenous crystalline trypsin // Bull. New York Acad. Med. — 1952. — Vol. 28. — P. 537-538.*
8. *Innerfield I., Schwarz A., Angrist A. Parenteral administration of trypsin: clinical effect in 538 patients // JAMA. — 1953. — Vol. 152. — P. 597-605.*

## СЛУЧАЙ

# СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОНА И ТРОМБОЦИТОВ ПРИ СОЧЕТАНИИ ДЕФЕКТА АОРТОЛЕГОЧНОЙ ПЕРЕГОРОДКИ С ВРОЖДЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ МИТРАЛЬНОГО КЛАПАНА У РЕБЕНКА 5 ЛЕТ (случай из практики)

*Л. И. Юновидова, В. Т. Селиваненко, И. А. Василенко, П. В. Прокошев, М. А. Мартаков, В. Б. Метелин, А. А. Терешина*
*Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф. Владимирского*

# ERYTRONUM AND TROMBOCYTES STATE IN AORTICOPULMONARY PARTITION DEFECT COMBINED WITH CONGENITAL MITRAL INSUFFICIENCY AT CHILD OF 5 YEARS OLD (clinical case)

*L. I. Junovidova, V. T. Selivanenko, I. A. Vasilenko, P. V. Prokoshev, M. A. Martakov, V. B. Metelin, A. A. Tereshina*
*Moscow regional scientific research institute*

This is a description of erythropoiesis oppression at child of 5 years old as a result of aorticopulmonary partition defect combined with congenital mitral insufficiency.

***Key words:*** *congenital heart disease — erythronum — thrombocyte.*

Дефект аортолегочной перегородки — редкий порок сердца, встречающийся в 0,2–0,3% случаях среди всех врожденных пороков сердца [1, 2]. В доступной нам литературе мы не встретили сообщений о сочетании указанной аномалии с врожденной недостаточностью митрального клапана, поэтому считаем интересным поделиться своим опытом. Представленный случай привлек наше внимание значительными изменениями в состоянии эритро- и тромбопоэза, обнаруженными при исследовании клинического анализа крови пациента. Цель данного описания — привлечь внимание врачей к состоянию эритрона при подобных патологиях. Возможно, что своевременная стимуляция кроветворения у таких пациентов поможет избежать нежелательных последствий при инфекционных осложнениях текущего заболевания.

Больной Х., 5 лет, поступил в отделение кардиохирургии 17.05.20005 г. с жалобами на одышку и утомляемость при малейшей физической нагрузке. Установлено отставание в физическом развитии; при рождении был выявлен врождённый порок сердца. Состояние при поступлении тяжелое, частота дыхания — 36 в минуту. Визуально область сердца изменена по типу «сердечного горба». По данным электрокардиографии: гипертрофия межжелудочковой перегородки и обоих желудочков. По результатам эхокардиографического исследования: дефект аортолёгочной перегородки. Лёгочная гипертензия. Митральная недостаточность 3 степени. Выраженная дилатация левых камер сердца, их объёмная перегрузка.

В условиях глубокой гипотермии (+22 °С) была выполнена операция — пластика дефекта аортолёгочной перегородки, протезирование митрального клапана. Послеоперационный период протекал без осложнений.

За два месяца до, во время и через 1 и 6 суток после операции исследовали клинический анализ крови и строили гистограммы с помощью аппарата “Serono-190 diagnostics” (**табл. 1**). Выявлено значительное уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина, снижение значений HCT, MCV (50 fl), MCH (14,6pg), преобладание в периферической крови гипохромных микроцитов, свидетельствовавшее о крайней тяжести состояния ребенка, приведшей к угнетению костномозгового кроветворения.

На всех последующих этапах наблюдения сохранялись низкие значения RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, достигая пика (MCV-48 fl, MCH-13,7) через 60 минут перфузии в условиях глубокой гипотермии. К концу операции, после трансфузии 500 мл эритромассы, удалось поднять HCT до 25,4%. На 6 сутки после операции величины RBC, HGB, HCT, MCV возвращались к дооперационному уровню.

*Таблица 1*

**Показатели периферической крови**

| Этапы исследования | RBC | HGB | HCT | MCV | MCH | PLT | MPV |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| За 2 месяца до операции | 3,42 | 105 | 33 | 50 | 14,6 | 350 | 12 |
| После интубации | 2,97 | 94 | 28 | | | | |
| 60 минут И.К. | 2,85 | 39 | 13,7 | 48 | 13,7 | 453 | 17 |
| 90 минут И.К. | 3,58 | 60 | 20,8 | 58 | 16,8 | 467 | 15 |
| После введения протамина | 3,67 | 62 | 20,6 | 56 | 16,9 | 530 | 15 |
| Конец операции | 4,24 | 100 | 25,4 | 60 | 18,0 | 547 | 15 |
| Через сутки | 4,96 | 91 | 30,8 | 62 | 18,3 | 577 | 16 |
| Через 6 суток | 4,97 | 103 | 32,8 | 66 | 20,7 | 470 | 14 |
| Здоровый ребенок 5 лет | 4,95 | 139 | 38,6 | 78 | 28,1 | 285 | 8 |

*Примечание: RBC — эритроциты; HGB — гемоглобин; HCT — гематокрит; MCV — средний объем эритроцита; MCH — среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците; PLT — тромбоциты; MPV — средний объем тромбоцита.*

На **рисунках 1** и **2** представлены совмещенные методом компьютерной графики эритроцитарные и тромбоцитарные гистограммы здорового ребенка 5 лет и пациента на различных этапах исследования. Эритрогистограмма боьлного, полученная за 2 месяца до операции, была унимодальной с резко выраженным сдвигом влево (**рис. 1**). Сразу после операции и через сутки после нее эритроцитарные гистограммы пациента были представлены в виде бимодальных кривых, резко отличаясь от исходной унимодальной. Изменения гистограммы и эритоцитарных показателей крови свидетельствовали о наличии железодефицитной анемии (по характеру гетерогенной, микроцитарной, гипохромной) и были представлены двумя пиками: первый — в зоне от 0 до 60 fl, образованный микроэритроцитами; второй — в зоне от 65 до 90 fl. Основную массу RBC второго пика составляли нормальные по объему клетки, а ее правую часть — макроциты. Эритроцитарная гистограмма с двумя пиками свидетельствует о присутствии двух популяций RBC, из которых одна представлена собственными клетками, преимущественно микроцитами, а другая — RBC, введенными при трансфузии эритроцитарной массы [3]. Сохранение этого типа кривой и через 6 дней после операции свидетельствовало о недостаточной эффективности костномозгового кроветворения.

Тромбоцитарная гистограмма больного (**рис. 2**) как до, так и после операции была, в отличие от таковой у здорового ребенка, бимодальной с наличием макротромбоцитов во втором пике (20–30 fl). Бимодальность тромбоцитарной кривой нельзя объяснить трансфузией тромбоконцентрата в конце операции, так как уже через 60 минут искусственного кровообращения наблюдали повышенное количество тромбоцитов с увеличенным MPV (**табл. 1**). На протяжении всего периода наблюдения количество тромбоцитов оставалось увеличенным более чем в 2 раза по сравнению с нормальным. При этом средний объем тромбоцитов (MPV) также был увеличен почти в 3 раза.

Прижизненная компьютерная фазометрия клеток, выполненная на 6 сутки после операции с помощью компьютерного фазовоинтерференционного микроскопа «Цитоскан», подтвердила данные гистограмм: все размерные показатели эритроцитов были ниже нормы, особенно высота и объем клеток. Содержание микроцитов было увеличено в 4 раза по сравнению с нормальным. Средние по популяции диаметр, периметр и площадь тромбоцитов превышали нормальные размеры; высота и объем клеток были снижены. Тромбоцитарное звено гемостаза находилось в состоянии «активации»; до 46% было снижено число тромбоцитов «покоя»; увеличено количество активированных тромбоцитов; число дегенеративно-измененных тромбоцитов составляло 10%. Несмотря на успешно проведенную коррекцию сочетанного порока, ребенок погиб через 3 месяца после операции от присоединившейся двухсторонней пневмонии. По-видимому, это произошло из-за невозможности обеспечить оксигенацию крови гипохромными микроэритроцитами в ре-

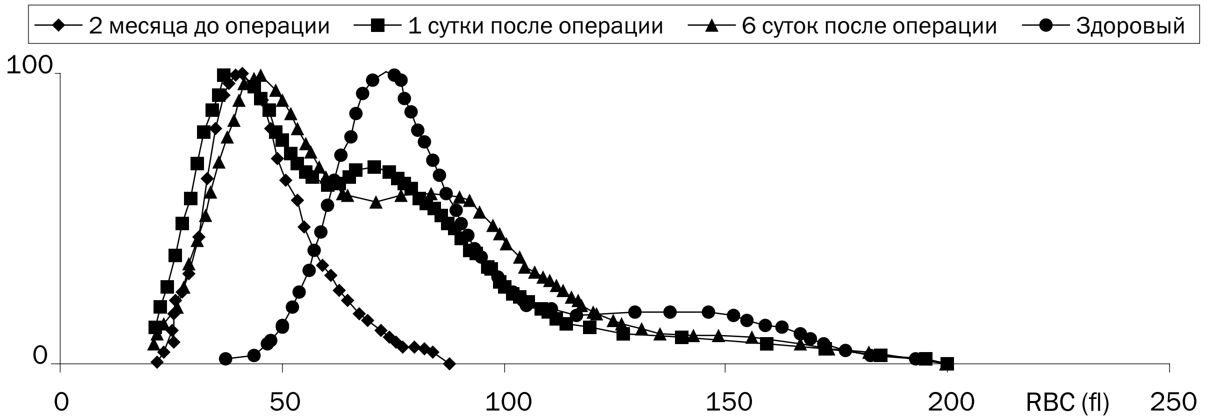



**Рис. 1.** Эритрогистограммы больного Х. и здорового ребенка 5 лет.

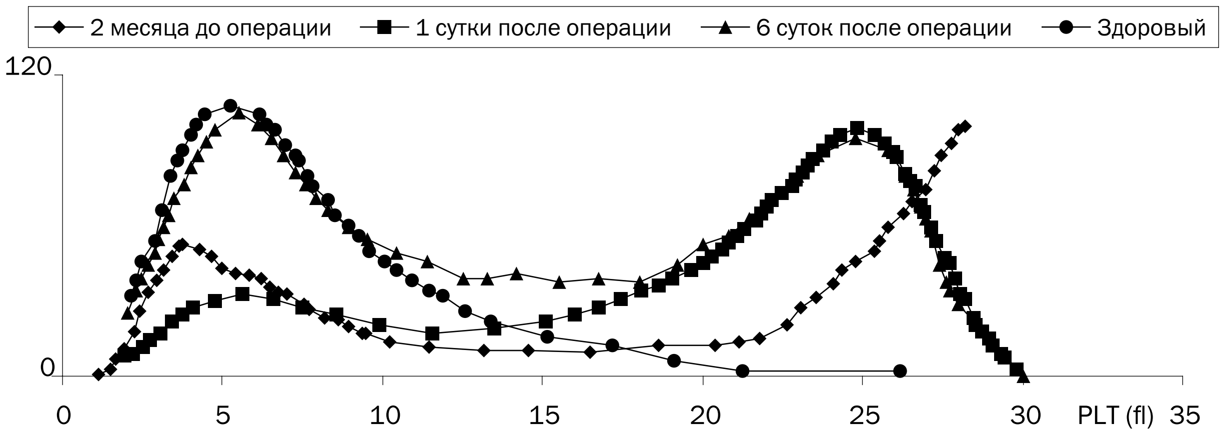



**Рис. 2.** Тромбогистограммы больного Х. и здорового ребенка 5 лет.

зультате недостаточности эритроцитарного кроветворения.

Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует, что врожденное сочетание дефекта аортолегочной перегородки и недостаточности митрального клапана привело к развитию резко выраженной сердечно-легочной недостаточности и, как следствие, к недостаточной оксигенации крови и полиорганной гипоксии. Ранее мы уже сталкивались с наличием микроэритроцитоза у детей с тетрадой Фалло. По нашим наблюдениям, выраженная легочная гипертензия, развивающаяся при этом пороке, приводит к общей гипоксии и подавлению функции эритрона и, как следствие, к преобладанию в периферической крови микроцитов.

В заключение мы хотим еще раз подчеркнуть, что для полного представления о состоянии эритропоэза пациента, особенно при наличии анемии, следует обращать внимание не только на количество эритроцитов и содержание гемоглобина, но и на показатели MCV, MCH, а также проводить анализ гистограмм.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Банкл Г. Врожденные пороки сердца и крупных сосудов. — М.: Медицина, 1980. — 311 с.*
2. *Бураковский В.И., Бокерия Л.А. Сердечно-сосудистая хирургия. — М.: Медицина, 1989. — 751 с.*
3. *Миронова И.И. Дифференциальная диагностика анемий с помощью гематологического анализатора «Система 9000» // Лабораторное дело. — 1994. — № 7. — С. 6-10.*

## ЭКСПЕРИМЕНТ

# ВЛИЯНИЕ МЕТАЛЛОДЕКСТРАНОВ РОНДФЕРРИНА И СПЕЙСФЕРРОНА НА РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЭРИТРОЦИТОВ (экспериментальное исследование in vitro)

*Е.В. Воробей, А.И. Тепляков*
*Могилевский государственный университет им. А.А.Кулешова, Могилев, Республика Беларусь*

# INFLUENCE OF IRON-CONTAINED METAL DEXTRANS RONDFERRIN AND SPEISFERRON ON RHEOLOGICAL BLOOD PROPERTIES AND ERYTHROCYTES STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS (experimental study in vitro)

*E.V. Vorobei, A.I. Teplyakov*
*Kuleshov' State University, Mogilev, Republic of Belarus*

We have studied the influence of metal dextran (MD) rondferrin and speisferron on whole blood rheological properties and suspension stability in experimental in vitro study. Objects of present study were venous blood samples from 98 volunteers-males. MD were added in whole blood samples in vitro (rondferrin 70 mcl/ml, speisferron 10 mcl/ml and neorondex 70 mcl/ml as control) with following incubation of blood samples with MD in plastic tubes at 37°C and results estimation after 60 min and 180 min. Hemorheologic study was performed using rotational viscosimeter AKR-2 ("Comed", Moscow) with detection of blood viscosity in the shear rate range from 300 to 10 $s^{-1}$ at standartized hematocrit (0,45 l/l) with estimation of red blood cells aggregation and deformability indexes. Blood suspension stability was studied using the building of hemorheological curves and taking into account the characteristic viscosity (i.e. viscosity value at shear rate 10 $s^{-1}$ were quoted to 1.0). Neorondex promoted the decreasing of whole blood viscosity in all range of shear rates. The decreasing of absolute and characteristic viscosimetric values (and decreasing of suspension stability) were distinctive for speisferron. The main possible effects of rondferrin concerned the enhancement of both non-newton's blood anomalies. Obtained results have shown once more that MD were switched on an active metabolic processes of mature erythrocytes.

***Key words:*** *hemorheology — mature red blood cells — iron-contained metal dextrans*

## ВВЕДЕНИЕ

Железо относится к разряду облигатных микроэлементов, без которых невозможно нормальное функционирование биологических систем. Участвуя в тканевом дыхании, оно поддерживает жизнеспособность клеток, в комплексе с порфирином входит в состав хромопротеинов, обеспечивающих процессы биологического окисления, является компонентом гемоглобина эритроцитов — универсальной молекулы, осуществляющей связывание, транспорт и перенос кислорода акцепторным клеткам и тканям [1]. Существуя в клетках в различных редокс-состояниях, железо обладает способностью катализировать реакции, в которых генерируются свободные радикалы кислорода, в том числе и в эритроцитах, наиболее многочисленных клетках периферической крови. Получено все больше подтверждений в пользу тесной связи феррокинетики и оксидативного стресса [2]. Это и диктует необходимость изучения реологических свойств крови, которые определяются структурно-функциональными реакциями эритроцитов и гемостазиологическим равновесием [3, 4].

Роль метаболизма железа в эритропоэзе и формировании зрелых эритроцитов не подлежит сомнению. В то же время, участие зрелых эритроцитов в феррокинетике остается не совсем ясным. В частности, показано, что активация метаболических процессов в эритроцитах может изменить и их способность к упругим деформациям в потоке [4]. Иначе говоря, функциональное состояние эритроцитов является основным фактором, определяющим вискозиметрические аномалии крови. Среди других факторов, определяющих эти реакции, следует остановиться на роли высокомолекулярных белков, прежде всего фибриногена [5].

В настоящее время получены многочисленные свидетельства в пользу того, что парентеральное введение препаратов железа таит в себе опасность токсических эффектов, которые, в основном, связаны с окислительно-восстановительными реакциями с возможностью генерации свободных радикалов, прежде всего реактивного кислорода [6–8]. Более того, отечественные металлодекстрановые (МД) кровезаменители, созданные по технологии радиационно-химической модифицкации декстрана, помимо комплексно связанного железа, содержат кобальт (спейсферрон), кобальт и медь (рондферрин) [9, 10]. Влияние этих препаратов на реологические свойства крови и ее суспензионную стабильность остаются во многом неясными, что и определило цель настоящего исследования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужили образцы венозной крови, полученной из кубитальных вен у 98 добровольцев-мужчин в возрасте от 18 до 35 лет, не принимавших на момент исследования никаких лекарственных препаратов.

МД добавляли в образцы цельной крови *in vitro* (70 мкл /мл образца — для рондферрина и 10 мкл/мл — для спейсферрона), что не превышает среднетерапевтических дозировок и позволяет, таким образом, избежать прямых токсических эффектов [7]. Для исключения влияния самого модифицированного декстрана проведено аналогичное исследование при инкубации образцов крови с неорондексом (как контрольным препаратом на основе только модифицированного декстрана, также в количестве 70 мкл/мл на образец крови). В дальнейшем образцы крови с препаратами инкубировали в пластиковых тубах (во избежание контактной активации гемостаза) при 37°С с оценкой реологических свойств крови через 60 и 180 минут от начала инкубации образцов крови с МД по сравнению с исходными значениями.

Гемореологическое исследование проводили на ротационном вискозиметре АКР-2 (МП «Комед», Москва) с определением вязкости крови в следующем диапазоне скоростей сдвига: 300, 200, 100, 75 50, 20 и 10 $с^{-1}$ при стандартном показателе гематокрита (0,45 л/л). Стандартизация гематокрита была предпринята для того, чтобы максимально возможным способом снизить влияние количества эритроцитов в отдельно взятом образце, что позволяет, с нашей точки зрения, оценивать именно функциональные свойства [11]. Подготовку образцов крови к вискозиметрическому исследованию проводили по общепринятой методике с использованием в качестве антикоагулянта 3,8 % раствора цитрата натрия (в соотношении 9:1) как для гемостазиологических исследований [12].

При высоких напряжениях сдвига эритроциты изменяют геометрические параметры в результате способности к упругим деформациям. Эта их способность приводит к тому, что зависимость «вязкость-скорость сдвига» в области высоких напряжений сдвига (300–100 $с^{-1}$), развиваемых кровотоком в аорте и крупных артериях, носит нелинейный характер [13]. Уменьшение калибра артерий и снижение скорости пульсового кровотока приводят к увеличению абсолютных значений вязкости крови, которая в обычных условиях (37°С, стандартизированный гематокрит) образует реологическое плато, наблюдаемое при средних скоростях сдвига (75–50 $с^{-1}$). При низких скоростях сдвига (20–10 $с^{-1}$), формирующихся в микроциркуляторном русле, решающая роль принадлежит способности эритроцитов к образованию микроагрегатов по типу «монетных столбиков». Указанный феномен лежит в основе второй неньютоновской аномалии крови [14]. Таким образом, во избежание искажения результатов анализа, оценку значений вязкости крови проводили, начиная со скорости сдвига 300 $с^{-1}$ с последующим снижением до 10 $с^{-1}$.

Обе вискозиметрические аномалии крови лежат в основе оценки исследования функциональных параметров эритроцитов: способности к деформации в потоке и агрегации. Функциональное состояние эритроцитов определяли с помощью расчета индексов агрегации (отношение вязкости крови при скорости сдвига 10 $с^{-1}$ к вязкости при скорости сдвига 100 $с^{-1}$) и деформируемости эритроцитов (отношение значений вязкости крови при скорости сдвига 100 $с^{-1}$ к значениям при 300 $с^{-1}$) [15, 16].

Суспензионную стабильность крови изучали с помощью построения гемореологических кривых с учетом значений ее характеристической вязкости (т.е. значения вязкости крови при скорости сдвига 10 $с^{-1}$ были приведены к 1,0) [17, 18].

*Таблица 1.*

**Влияние МД при 60 минутах инкубации на реологические свойства крови и структурно-функциональные параметры эритроцитов (M±σ; n=54)**

| Показатель | Исходные значения | 60 минут инкубации при 37°С | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Неорондекс | Рондферрин | Спейсферрон |
| Скорость сдвига (сПз): | | | | |
| 300 $с^{-1}$ | 4,40±0,31 | 4,38±0,35 | 4,47±0,58 | 4,27±0,33*,** |
| 200 $с^{-1}$ | 4,53±0,36 | 4,50±0,36 | 4,83±0,61*,**,*** | 4,37±0,33* |
| 100 $с^{-1}$ | 4,90±0,55 | 4,83±0,43 | 5,27±0,82*,**,*** | 4,72±0,39* |
| 75 $с^{-1}$ | 5,10±0,68 | 5,01±0,50 | 5,50±0,92*,**,*** | 4,87±0,44* |
| 50 $с^{-1}$ | 5,37±0,82 | 5,31±0,55 | 5,87±2,11*,**,*** | 5,12±0,50*,** |
| 20 $с^{-1}$ | 6,07±1,02 | 6,02±0,74 | 6,83±1,38*,**,*** | 5,85±0,61*,** |
| 10 $с^{-1}$ | 6,84±1,11 | 6,92±0,91 | 7,74±1,38*,**,*** | 6,68±0,84* |
| Индекс агрегации эритроцитов (у.е.) | 1,39±0,08 | 1,43±0,12 | 1,46±0,07*,** | 1,41±0,08 |
| Индекс деформируемости эритроцитов (у.е.) | 1,11±0,05 | 1,10±0,02 | 1,10±0,02 | 1,10±0,02 |

*Примечание: достоверность (p<0,05) различий (парный метод Уилкоксона): * — по сравнению с исходными значениями; ** — по сравнению с неорондексом; *** — по сравнению со спейсферроном.*

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты вискозиметрического исследования после 60 минут инкубации образцов крови здоровых добровольцев с МД по сравнению с исходными значениями и неорондексом в качестве контрольного препарата приведены в **таблице 1**.

Как можно видеть, вязкость крови при наибольших значениях скорости сдвига (300 $с^{-1}$) не претерпевала существенных изменений по сравнению с исходными значениями, за исключением достоверного снижения этого параметра после инкубации со спейсферроном, а при скорости сдвига 200 $с^{-1}$ обнаружен аналогичный характер изменений при инкубации образцов крови с этим препаратом. Уже через 60 минут вязкость крови при инкубации с рондферрином достоверно возрастала по сравнению с исходными значениями, а также результатами, полученными при инкубации с неорондексом. Нами обнаружено снижение вязкости крови в диапазоне 200–10 $с^{-1}$ при инкубации образцов со спейсферроном. Статистически незначимые тенденции к снижению вязкости крови, регистрируемые во всем исследуемом диапазоне скоростей сдвига, были характерны и для неорондекса.

Характер изменений вязкости крови при инкубации образцов крови с рондферрином явился для нас в определенной степени неожиданностью: в диапазоне скоростей сдвига 200–10 $с^{-1}$ отмечали выраженное статистически значимое увеличение значений вязкости крови. Эта тенденция не прослеживалась ни при инкубации с неорондексом, ни со спейсферроном. Более того, для рондферрина характерными оказались и структурно-функциональные перестройки эритроцитов: отмечался достоверный рост индекса агрегации эритроцитов, что указывает на повышение тенденции этих форменных элементов к сладжевым реакциям. В то же время, значимых изменений индекса деформируемости эритроцитов нами не зарегистрировано не было.

Гемореологическая картина, полученная при продолжении инкубации образцов крови с препаратами до 180 минут, представлена в **таблице 2**. При продолжении инкубации образцов крови с неорондексом зарегистрировано статистически значимое снижение вязкости крови по сравнению с исходными значениями в диапазоне скоростей сдвига 50–20 $с^{-1}$. После 180 минут инкубации образцов крови со спейсферроном сохранялась достоверная тенденция к снижению значений вязкости крови во всем изучаемом диапазоне скоростей сдвига. Несмотря на равномерное снижение абсолютных значений вязкости, отмечали изменение обоих расчетных параметров: рост индекса агрегации свидетельствовал о сохранении тенденций к сладжевым реакциям, но в то же время снижение индекса деформируемости эритроцитов указывало на снижение пластичности эритроцитов при высоких напряжениях сдвига. При продолже-

*Таблица 2.*

**Влияние МД при 180 минутах инкубации на реологические свойства крови и структурно-функциональные параметры эритроцитов (M±σ; n=54)**

| Показатель | Исходные значения | 180 минут инкубации при 37°С | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Неорондекс | Рондферрин | Спейсферрон |
| Скорость сдвига (сПз): | | | | |
| 300 $с^{-1}$ | 4,40±0,31 | 4,38±0,23 | 5,39±1,15*,**,*** | 4,26±0,47*,** |
| 200 $с^{-1}$ | 4,53±0,36 | 4,50±0,24 | 5,58±1,22*,**,*** | 4,38±0,48*,** |
| 100 $с^{-1}$ | 4,90±0,55 | 4,82±0,32 | 6,12±1,44*,**,*** | 4,62±0,55*,** |
| 75 $с^{-1}$ | 5,10±0,68 | 4,98±0,37 | 6,40±1,56*,**,*** | 4,76±0,58** |
| 50 $с^{-1}$ | 5,37±0,82 | 5,01±0,45* | 6,85±1,76*,**,*** | 4,97±0,62* |
| 20 $с^{-1}$ | 6,07±1,02 | 5,81±0,52* | 7,77±1,76*,**,*** | 5,66±0,70*,** |
| 10 $с^{-1}$ | 6,84±1,11 | 6,70±0,83 | 8,72±1,68*,**,*** | 6,56±0,84*,** |
| Индекс агрегации эритроцитов (у.е.) | 1,39±0,08 | 1,38±0,10 | 1,45±0,14*,** | 1,42±0,05* |
| Индекс деформируемости эритроцитов (у.е.) | 1,11±0,05 | 1,09±0,02 | 1,15±0,03*,**,*** | 1,08±0,02 |

*Примечание: достоверность (p<0,05) различий (парный метод Уилкоксона): * — по сравнению с исходными значениями; ** — по сравнению с неорондексом; *** — по сравнению со спейсферроном.*

нии инкубации образцов крови с рондферрином изменение вязкости крови продолжало носить парадоксальный характер: вязкость образцов крови после 180 минут инкубации возрастала еще больше, особенно значимо при низких скоростях сдвига (50–10 $с^{-1}$). Более того, характер изменений расчетных параметров также носил двунаправленный характер: индекс агрегации статистически значимо и существенно возрастал, но в то же время возрастала и пластичность эритроцитов, так как индекс деформируемости также возрастал.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Отличительной чертой спейсферрона является более высокая концентрация исследуемых комплексообразующих ионов железа и кобальта, что, однако, было нами учтено при постановке эксперимента (спейсферрон добавляли из расчета 10 мкл/мл, тогда как рондферрин — из расчета 70 мкл/мл). Отличительной чертой рондферрина является наличие ионов меди, обладающих *in vitro* мощной периоксидантной активностью, которая может быть направлена на клеточные мембраны и даже на катионы железа, входящие в состав МД [19].

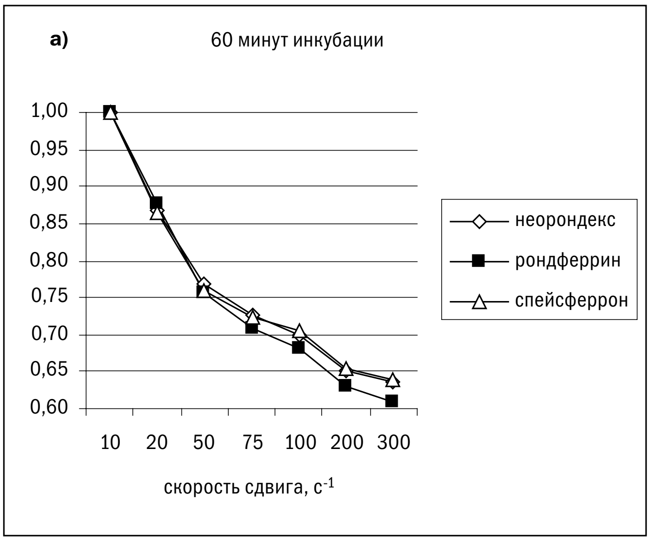
Для уточнения механизма изменения реологических свойств крови и оценки ее стабильности как суспензии мы построили реологические кривые, исходя из значений характеристической вязкости. Соответствующие реологические кривые после 60 минут инкубации с МД представлены на **рис.1а**.

Заслуживает внимания выявленный нами факт, что в области средних скоростей сдвига, отражавших особенности кровотока в артериях среднего и мелкого калибра и формирующих реологическое плато, выявлялись определенные различия. Прежде всего, при инкубации образцов крови с неорондексом и спейсферроном реологическое плато формировалось более отчетливо, что свидетельствовало о сохранении суспензионной стабильности крови.

При инкубации же с рондферрином реологическое плато располагалось ниже, чем при инкубации с другими изучавшимися препаратами, что свидетельствовало о снижении суспензионной стабильности крови. Интересно отметить также, что продолжение инкубации образцов крови с обоими МД приводило к существенным изменениям взаимного расположения реологических кривых, построенных с учетом значений характеристической вязкости, что и представлено на **рис.1б**.

Продолжение инкубации с обоими МД характеризовалось снижением реологического плато по сравнению с неорондексом. Однако анализ реологических кривых установил между ними ряд различий.

Значения гемореологических параметров при инкубации образцов с рондферрином указывают на наличие двух особенностей: во-первых, повыше-



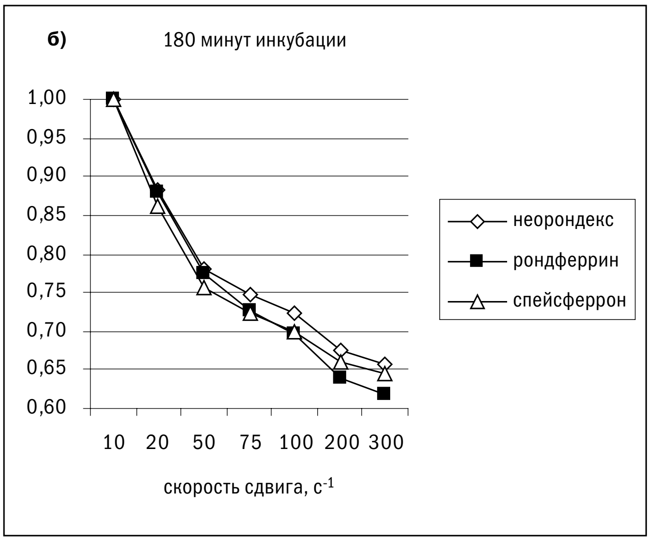




**Рис. 1.** Зависимость «скорость сдвига — характеристическая вязкость» через 60 (а) и 180 минут (б) после инкубации крови с исследуемыми МД

ние абсолютных значений вязкости крови и снижение ее характеристической вязкости при высоких скоростях сдвига, и во-вторых, повышение значений вязкости крови при низких скоростях сдвига. Указанные изменения свидетельствуют об усилении вискозиметрических аномалий крови сразу в обоих направлениях, что подтверждается и результатами оценки функциональных параметров эритроцитов по расчетным индексам агрегации и деформируемости эритроцитов.

Объяснение подобным изменениям не было найдено нами в доступной литературе, однако, в основе обнаруженного явления лежат, на наш взгляд, различные механизмы: в области высоких напряжений сдвига может иметь место развитие феномена «гипертекучести», обусловленного, в частности, как изменением реологических свойств плазмы крови, так и неустойчивостью клеточной основы, формирующей суспензию. При низких же скоростях сдвига повышение значений может быть обусловлено избыточной способностью эритроцитов к агрегации. Как правило, такие эффекты при применении МД диктуют необходимость анализа других быстрореагирующих форменных элементов крови и их функциональных связей, лежащих в основе обнаруженных явлений. В этой ситуации рондферрин можно рассматривать как препарат, у которого при высоких скоростях сдвига хелатные супрамолекулярные комплексы характеризуются повышенной «текучестью», тогда как при низких скоростях сдвига они существенно повышают сладжируемость эритроцитов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного экспериментального исследования указывают на то, что все исследуемые препараты обладают реологически активными свойствами различного рода, которые проявляются с увеличением времени инкубации с ними образцов цельной крови *in vitro*. Во-первых, неорондекс способствовал снижению показателей вязкости крови во всем исследуемом диапазоне скоростей сдвига с отсутствием негативных тенденций со стороны функционирования эритроцитов и реологического плато, что свидетельствует о сохранении стабильных суспензионных свойств крови; во-вторых, для спейсферрона характерно снижение значений как абсолютной, так и характеристической вязкости крови, а также снижение ее суспензионной стабильности, и в-третьих, наиболее необычными и интересными с точки зрения гемореологии представляются результаты инкубации образцов крови с рондферрином.

Обращает на себя внимание возможный эффект, связанный с усилением обеих неньютоновских аномалий крови. При высоких напряжениях сдвига характеристическая вязкость крови снижалась, что характерно и для других реокорригирующих препаратов, тогда как при низких значениях скоростей сдвига — возрастала, что является отличительной особенностью этого препарата и свидетельствует о наиболее выраженных перестройках баланса форменных элементов крови. Следует принять во внимание и возможное повышение вязкости плазмы.

Полученные результаты свидетельствуют об активном включении МД в метаболические процессы, протекающие в зрелых эритроцитах. В итоге реологические свойства крови представляют собой интегральный биофизический результат, который определяется непрерывным взаимодействием ее форменных элементов и реологически активных высокомолекулярных соединений плазмы.

### ЛИТЕРАТУРА


1. *Петров В.Н. Физиология и патология обмена железа. — Л., 1982. — 213 с.*
2. *Cairo G., Tacchini L., Recalcati S. et al. Effect of Reactive Oxygen Species on Iron Regulatory Protein Activity // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 1998. — Vol. 851, № 1. — P. 179-186.*
3. *Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрина Н.Х. Реология крови. — М.: Медицина, 1982. — 272 с.*
4. *Галенок В.А., Гостинская Е.В., Диккер В.Е. Гемореология при нарушениях углеводного обмена. — Новосибирск.: Наука, 1987. — 262 с.*
5. *Савельева Г.М., Дживелегова Г.Д., Шалина Р.И. и соавт. Гемореология в акушерстве. — М.: Медицина, 1986. — 224 с.*
6. *Zager R.A., Johnson A.C., Hanson S.Y., Wasse H. Parenteral iron formulations: A comparative toxicologic analysis and mechanisms of cell injury // Am. J. Kidney Dis. — 2002. — Vol. 40. — P. 90-103.*
7. *Fishbane S. Safety in iron management // Am. J. Kidney Dis. — 2003. — Vol. 41. — P. 18-26.*
8. *Rooyakkers T.M., Stroes E.S., Kooistra M.P. Ferric saccharate induces oxygen radical stress and endothelial dysfunction in vivo // Eur. J. Clin. Invest. — 2002. — Vol. 32. — P. 9-16.*
9. *Гапанович В.Н., Петров П.Т., Иванов Е.П., Царенков В. М. и соавт. Кровезамещающий раствор на основе металлодекстранового комплекса — рондферрин / В кн.: Мат. межд. конф. «Актуальные проблемы разработки и производства кровезаменителей и препаратов крови». — Минск, 1994. — С. 29-32.*
10. *Совершенствование трансфузиологического обеспечения в Республике Беларусь. Разработка, экспериментальное изучение и клиническое применение препарата «Неорондекс»: Матер. республ. научно-практич. конф. / Под ред. д.м.н. В.А. Остапенко, к.м.н. Н.Г. Кручинского, к.м.н. В.Н. Гапановича. — Могилев, 1994. — 170 с.*
11. *Костин Г.М., Кольцов Е.В., Лужников Е.А., Фирсов Н.Н. Гемореологическое обоснование трансфузионной терапии при острых экзогенных интоксикациях // Пробл. гематол. и перел. крови. — 1981. — № 10. — С. 37-41.*
12. *Иванов Е.П. Руководство по гемостазиологии. — Минск: Беларусь, 1991. — 302 с.*
13. *Мчедлишвили Г.И. Микроциркуляция крови. Общие закономерности регулирования и нарушений. — Л.: Наука, 1989. — 295 с.*
14. *Мосягина Е.Н., Владимирская Е.В., Торубарова Н.А. и соавт. Кинетика форменных элементов крови.- М.: Медицина. — 1976. — 272 с.*
15. *Парфенов А.С., Пешков А.В., Добровольский Н.А. Анализатор крови реологический АКР-2. Определение реологических свойств крови: Метод. рекомендации. – НИИ Физико-химической медицины. — Москва, 1994. — С.15.*
16. *Зинчук В.В. Значение деформируемости эритроцитов в организме // Мед. новости. — 1998. — № 4. — С. 14-16.*
17. *Ройтман Е.В., Перевертин К.А. Использование метода математического моделирования для изучения агрегатного состояния крови. Модель гемореологической кривой // Гематол. и трансфузиол. — 1996. — Т. 41, № 3. — С. 36-40.*
18. *Кручинский Н.Г., Тепляков А.И., Гапанович В.Н. и соавт. Экспресс оценка реологических свойств крови и методы коррекции их нарушений у пациентов с атеросклерозом: Метод. рекоменд. МЗ РБ (регистрационный № 130 — 9911). / Современ. методы диагн., леч. и профил. заболев.: Сб. инструктив. — метод. док. (офиц. изд.). — 1-е изд. — Минск: БелЦНМИ, 2001. — Т. 2. — С. 353-374.*
19. *Dasgupta A., Zdunek J. In vitro lipid peroxidation of human serum catalyzed by cupric ion: antioxidant rather than peroxidant role of ascorbate // Life Sci. — 1992. — Vol. 50. — P. 875-882.*

## ТЕСТОВАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

# ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРИБОРА «ACTALYKE® XL» ДЛЯ КОНТРОЛЯ ГЕПАРИНИЗАЦИИ ПРИ ОПЕРАЦИЯХ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

*Ю. А. Морозов, М. А. Чарная, В. Г. Гладышева*
*Лаборатория экспресс-диагностики Российского научного центра хирургии им. акад. Б.В. Петровского РАМН, Москва*

# ACTALYKE® XL HEPARINIZATION MANAGEMENT IN CARDIAC EXTRACORPOREAL SURGERY

*Yu. A. Morozov, M. A. Charnaya, V. G. Gladisheva*
*RRCS RAMS, Moscow*

В статье приводится обзор приборов, предназначенных для измерения времени активированного свертывания в контроле за адекватностью гепаринизации при операциях в условиях искусственного кровообращения с использованием нового аппарата «Actalyke® XL».

При операциях на сердце в условиях искусственного кровообращения (ИК) в качестве антикоагулянта обычно используют гепарин. Нефракционированный гепарин является «идеальным» антикоагулянтом и его использование в больших дозах при операциях на сердце в условиях ИК является безопасным. Для поддержания крови в жидком состоянии во время ИК необходимо применять высокие концентрации гепарина (2,0–4,0 МЕ/мл). На ранних этапах развития кардиохирургии дозы гепарина и протамина рассчитывались с использованием формул. Недостатком этого метода является то, что рассчитываемые дозы не учитывали индивидуальную чувствительность больного к препарату. Ответ пациента на гепарин и протамин варьировал более чем на 22% из-за резистентности или повышенной чувствительности к одному или обоим препаратам [6]. Важное значение также имют различные лоты и производители гепарина [4].

В 1966 году *Hattersley P.G.* для контроля за адекватностью гепаринизации был предложен метод определения времени активированного свертывания (ВАС) [11]. В середине 70-х годов *Hattersley PG. и Bull B.S.* применили определение ВАС для мониторинга за высокими дозами гепарина при ИК. *Bull B.S.* установил дозовую схему, основанную на достижении ВАС 480 секунд [6]. Этот тест проводился вручную с использованием стеклянных пробирок, периодически поворачиваемых во время измерения, и визуальной регистрацией времени появления нитей фибрина. Благодаря тому, что ВАС эффективно отражает индивидуальную реакцию пациента на гепарин, можно контролировать как передозировку, так и недостаточную дозу гепарина во время операции. Определение ВАС позволяло снизить послеоперационную кровопотерю, потребность в гемотрансфузиях, избежать введения избыточного количества протамина и уменьшить число повторных операций по поводу нехирургических кровотечений [2]. Метод ВАС прост в проведении, использует пробы цельной крови и дает возможность получать результаты в течение 10 минут при концентрации гепарина выше, чем 1 МЕ/мл. ВАС представляет собой «золотой стандарт» для мониторинга гепарина во время ИК и является лабораторным тестом, наиболее часто используемым для измерения активности гепарина во время ИК.

Во время ИК ВАС может сильно изменяться. Оно не коррелирует с активностью гепарина, измеренной по анти-Ха-активности, а также с концентрацией гепарина, особенно во время гипотермии и гемодилюции, связанной с ИК [7, 13, 16]. *Despotis G.J. и соавт.* (1994) показали слабую взаимосвязь между ВАС и концентрацией гепарина во время ИК, измеренной по анти-Ха-активности, отмечая при этом влияние на ВАС сниженного гематокрита и температуры [8]. Другим ограничением целит-активированного ВАС является его удлинение в присутствии апротинина и препаратов, которые ингибируют тромбоцитарный гликопротеин IIb/IIIa [3, 18], а также его тенденцию к снижению в условиях хирургического стресса [10]. При исследовании влияния апротинина на различные способы определения ВАС во время ИК *Jones K. и соавт.* (2004) показали, что результаты тестов могут отличаться друг от друга от 12 до 51% [12].

Мониторинг ВАС, проводимый при использовании «классических» доз гепарина во время ИК, имеет существенное значение для безопасности кардиохирургических операций. Фармакокинетика гепарина является гетерогенной, зависит от уровня эндогенных кофакторов и особенно чувствительна к активности и уровню антитромбина III.

В аппаратах, предназначенных для контроля за антикоагуляцией, также используется принцип ВАС. При этом активация цельной крови производится целитом, каолином, стеклом или комбинацией активаторов.

Прибор «Hemochron» (International Technidyne Corporation, Edison, NJ) регистрирует образование сгустка в специальной стеклянной пробирке, содержащей целит (диатомовую землю). Для измерения ВАС используют 2 мл цельной венозной крови. Аппарат не требует калибровки и может использоваться для измерения ВАС многократно в день. «Hemachron Jr» и «Hemachron Jr. Signature» представляют собой миниатюрные приборы, работающие от батареек, которые предназначены для определения ВАС в объеме крови 15 мкл. Оба прибора могут измерять ВАС при высокой (1,5–6,0 ЕД/мл), средней (1,5–2,5 ЕД/мл) и низкой (0–1,5 ЕД/мл) концентрации гепарина в крови, а также проводить определение протромбинового времени с представлением результата в виде Международного Нормализованного Отношения.

«Medtronic ACT II» (Medtronic, Minneapolis, MN) имеет то же клиническое применение, что и «Hemochrone». Измерение времени образования сгустка проводится в пластиковом картридже, содержащем каолин в качестве активатора. Исследование проводится в двойной параллельной пробе по 0,4 мл цельной венозной крови, что создает определенные неудобства в дозировании пробы. При этом каолин-активированное время свертывания не зависит от применения апротинина [18]. Было также показано, что «Medtronic ACT II» более чувствителен к гепарину, чем «Hemochron» и имеет широкий линейный диапазон ВАС при аналогичных концентрациях гепарина [15].

Фирмой «Recently Cardiovascular Diagnostics» (Raleigh, NC) совместно с «Chiron» (Norwood, MA) был предложен так называемый тест управления гепарином (heparin management test — HMT) также базирующийся на измерении ВАС при высоких дозах гепарина, который выполняется на аппарате «TAS analyzer». HMT является более чувствительным и специфическим тестом, чем классическое ВАС для контроля за гепаринизацией. В качестве активатора используется силикат магния-алюминия, что позволяет измерять ВАС при широких диапазонах концентрации гепарина в крови — 1,0–10,0 ЕД/мл [17]. Используется как цельная кровь без антикоагулянтов, так и цитратная венозная или капиллярная кровь. Проба в дозе 0,25 мл наносится на тест-карту и измерение проводится по изменению электромагнитного поля при образовании сгустка.

Проведенные исследования показали, что HMT дает аналогичные результаты, что и прибор «Hemochron», но в отличие от «Hemochron», HMT не зависит от гемодилюции, гипотермии, дефицита факторов свертывания и других нарушений в системе гемостаза, вызываемых искусственным кровообращением, а также на него не влияет использование апротинина и ε-аминокапроновой кислоты [17].

«GEM PCL» (Instrumentation Laboratory, Lexington, MA) является еще одним прибором для мониторирования ВАС при высоких дозах гепарина. Однако проведенное сравнительное изучение трех аппаратов для измерения ВАС («Hemochron», «Medtronic ACT II» и «GEM PCL») показало, что ВАС, измеренное с помощью «Hemochron» и «Medtronic ACT II», было практически одинаковым, а при определении на приборе «GEM PCL» — сильно отличалось. Была выявлена сильная корреляция в различиях между ВАС, измеренного на этих приборах: между «GEM PCL» и «Hemochron» r=0,68, «GEM PCL» и «Medtronic ACT II» — *r=0,76* [5].

Еще одним аппаратом для измерения ВАС является «Actalyke A2P», используемый MAX-ACT тест. Конструкция прибора предусматривает определение ВАС за более короткое время, что обеспечивает бы более воспроизводимые результаты при ответе на введение гепарина во время ИК. Это было достигнуто путем использования в качестве активатора фактора XII комбинации стеклянных бусинок, целита и каолина [9]. Данный тест обеспечивал

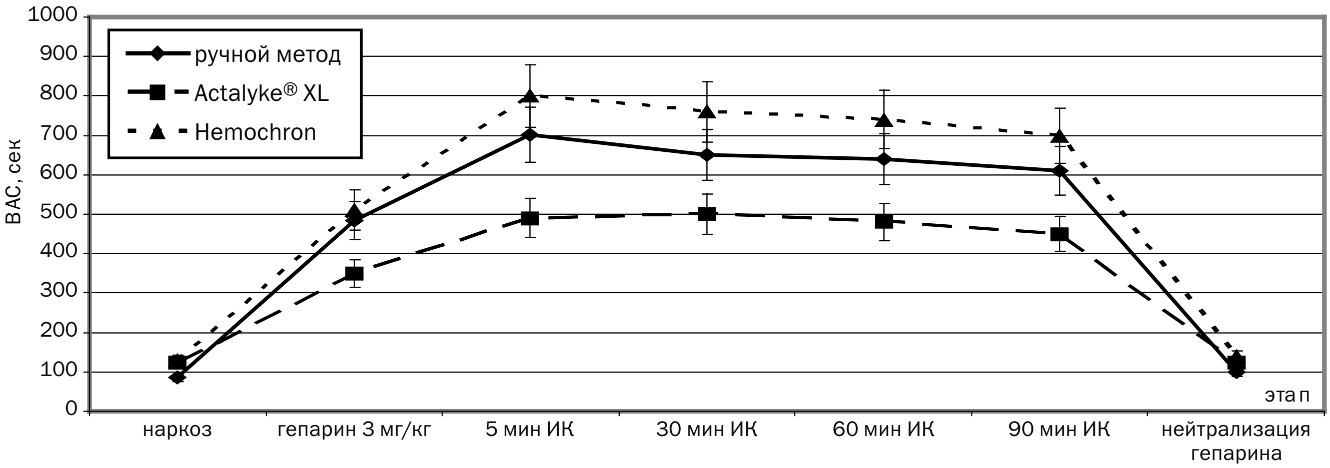



**Рис. 1.** Сравнение ВАС, измеренного тремя способами

линейность измерения ВАС при концентрациях гепарина от 2,0 до 10,0 ЕД/мл и воспроизводимость результатов с погрешностью 2–4% (в сравнении, погрешность измерения «Hemochron» составляет 10–25%). Преимуществами «Actalyke A2P» также является и то, что в отличие от других приборов, он имеет две конечные точки детекции.

В последнее время на Российском рынке появился новый прибор «Actalyke® XL» (Helena Laboratories, США), предназначенный для определения ВАС в цельной крови в целях мониторинга гепаринотерапии средними и высокими дозами. Механизм детекции образования сгустка основан на изменении магнитного поля постоянного магнита, находящегося в тестовой пробирке, при формировании фибриновых нитей. Наличие двойного полупроводникового датчика минимизирует риск пропуска конечной точки. Прибор может работать как от сети переменного тока, так и от аккумуляторных батарей, что позволяет использовать его как в условиях стационарной лаборатории, так и непосредственно у постели больного.

«Actalyke® XL» имеет две измерительные ячейки для одновременного независимого определения ВАС двух больных. Измерение ВАС проводится в цельной венозной крови. Большим преимуществом является использование малого объема крови — 0,5 мл, причем тест-пробирки имеют маркировку объема, что позволяет точно отмерять нужный объем. В зависимости от целей исследования можно использовать тест-пробирки, содержащие в качестве активатора целит (режим «C-ACT»), каолин (режим «K-ACT»), стеклянные гранулы (режим «G-ACT») или все активаторы одновременно (режим «MAX-ACT»). Измерение ВАС проводится в диапазоне 0-1500 сек при температуре инкубации 36,5–37,5°С.

Важным достоинством прибора является возможность введения сведений о пациенте (дата и время исследования, идентификационный номер больного), а также использование данных оператора и пароля пользователя, что позволяет избежать нежелательных вмешательств.

Также необходимо отметить, что в «Actalyke® XL», в отличие от других приборов, предусмотрен экспорт полученных данных во внешний компьютер или ЛИС. Минимальный объем экспортируемых данных включает тип выполненного теста, сведения об использованной измерительной ячейки, дату и время выполнения теста, результаты ВАС, а также идентификационный номер пациента. Дополнительно можно настроить для передачи демографические данные больного (пол, рост, вес), верхний и нижний диапазоны допустимых значений ВАС-теста.

*Toffaletti JG., McDonnell E.* (2002) провели сравнительное изучение определения ВАС с помощью приборов «Hemochron 801» и «Actalyke® XL» [14]. Исследование проводили на образцах крови, взятых у больных при операциях на сердце в условиях ИК, вспомогательном кровообращении и катетеризации сердца. Авторы заключили, что точность результатов была выше при использовании «Actalyke® XL», чем «Hemochron 801», особенно при высоких дозах гепарина. Полученные на «Actalyke® XL» результаты ВАС были короче, чем данные, измеренные на «Hemochron 801». Это может быть связано с наличием в тест-системе «Actalyke® XL» трех активаторов свертывания, а не одного как в «Hemochron 801».

В лаборатории экспресс-диагностики ГУ Российского научного центра хирургии им. акад Б.В. Петровского РАМН было проведено тестирование

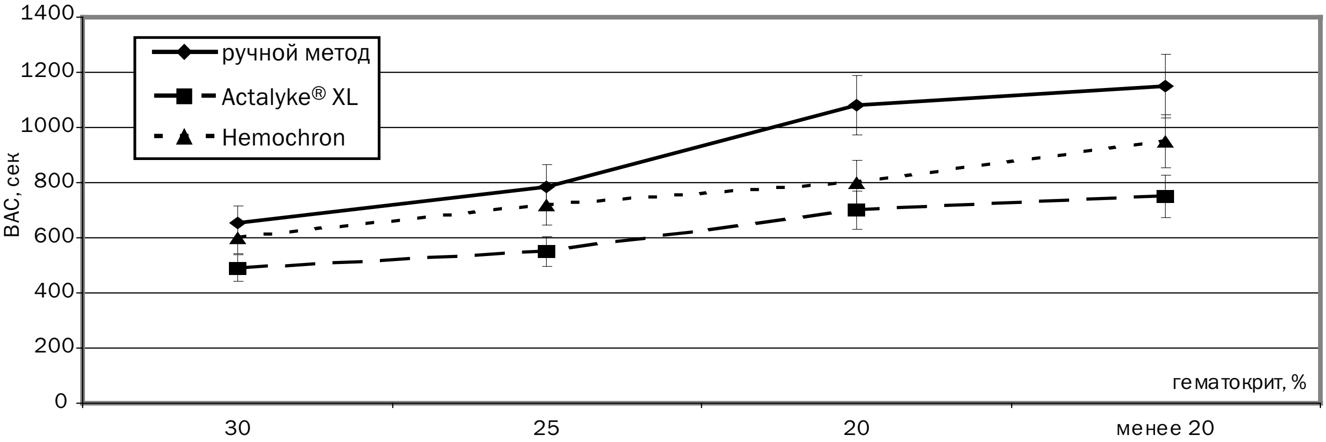



**Рис. 2.** Сравнение ВАС, измеренного во время ИК тремя способами, в зависимости от гематокрита

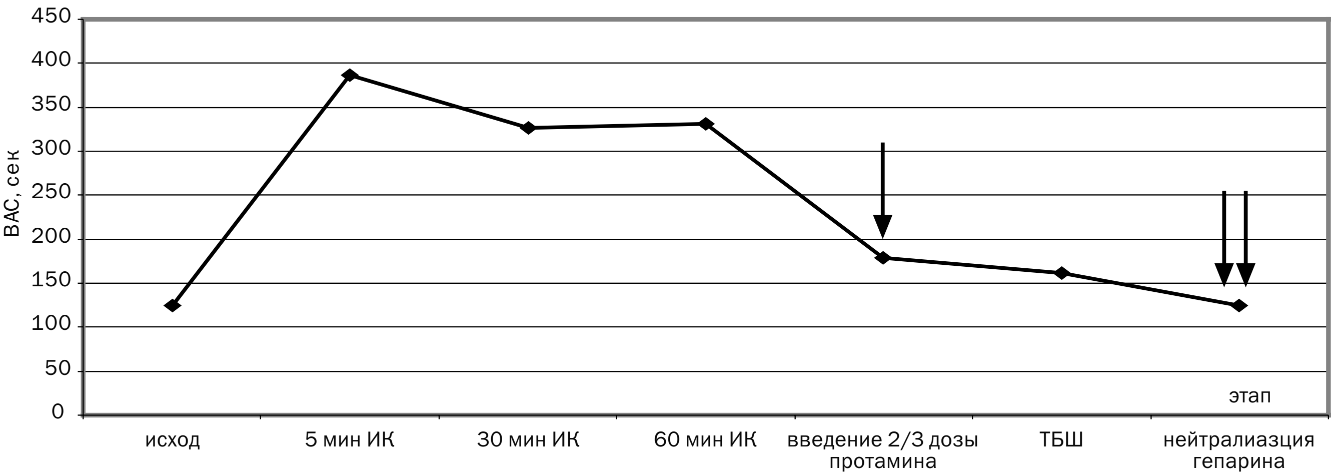



**Рис. 3.** График ВАС больного N. на этапах операции.

Примечание: ТБШ — тибиально-бедренное шунтирование; ↓ — введение 2/3 дозы протамина сульфата; ↓↓ — полная нейтрализация гепарина

прибора «Actalyke® XL» для измерения ВАС у больных во время операций на сердце в условиях ИК. Измерение ВАС в режиме «MAX-ACT» проводили на этапе вводного наркоза, после введения расчетной дозы гепарина (3 мг/кг массы тела больного), через 5 минут после начала ИК, в дальнейшем — каждые 30 минут ИК и после нейтрализации гепарина протамина сульфатом. Все больные получали пролонгированную инфузию апротинина в дозе 2 млн по схеме, применяемой в ГУ РНЦХ им. акад. Б. В. Петровского РАМН [1]. В качестве сравнения применяли ручное определение ВАС и аппаратное на приборе «Hemochron 801» с использованием пробирок FTCA 510. Результаты представлены на **рисунке 1**.

Как видно из представленных данных, ВАС, определенное за время ИК с помощью прибора «Actalyke® XL», характеризуется наименьшими значениями и стабильностью измерения во время ИК. Наличие в тест-пробирке трех активаторов позволяет нивелировать эффект апротинина на ВАС, что невозможно при ручном методе и в аппарате «Hemochron 801».

Мы провели исследование ВАС, измеренного тремя способами, в зависимости от величины гематокрита во время операций в условиях ИК. Результаты представлены на **рисунке 2**.

Из **рисунка 2** видно, что «Actalyke® XL» наименее чувствителен к уровню гематокрита, особенно при низких его значениях (менее 20%), что является большим преимуществом по сравнению с другими способами. Это может быть объяснено наличием двух полупроводниковых датчиков регистрации, что значительно повышает чувствительность прибора.

Одним из достоинств аппарата «Actalyke® XL» является возможность сохранения данных измерения ВАС больного и построения индивидуального графика. Это было невозможно на других приборах. В качестве иллюстрации приводим график динамики ВАС больного N., котором после операции в условиях ИК выполнено тибиально-бедренное шунтрование (**рис. 3**).

Таким образом, «Actalyke® XL» является простым в эксплуатации, высоко чувствительным прибором для измерения ВАС у кардиохирургических больных во время операций в условиях искусственного кровообращения. Использование малого (0,5 мл) объема крови, возможность работы от сети и от аккумуляторных батарей, небольшие габариты и вес (6,8 кг) делают его незаменимым для определения ВАС в стационарной лаборатории, в операционной или непосредственно у постели больного.

Возможность выбора различных режимов определения ВАС в зависимости от используемых активаторов и наличие тест-пробирок, содержащих одновременно три активатора свертывания, нивелирует эффект апротинина, который широко используется в кардиохирургии. Наличие двойной детекции образования сгустка позволяет быстро получать ответ даже при низких значениях гематокрита.

Удобный интерфейс передачи и сохранения данных определяют эффективность использования «Actalyke® XL» как в рутинной, так и научной практике.

## ЛИТЕРАТУРА.

1. *Дементьева И.И., Чарная М.А., Морозов Ю.А. Применение трасилола в кардиохирургии. / Методические рекомендации. // М., Медиа Сфера. — 2003. — 32 с.*
2. *Савина М.Э. Активированное время свертывания в оценке адекватности гепаринизации и нейтрализации гепарина при операциях с искусственным кровообращением. // Дисс… канд. мед. наук. — М. — 1986. — 229 с.*
3. *Ammar T., Scudder LE., Coller BS. In vitro effects of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists c7E3 Fab on the activated clotting time. // Circulation. — 1997. — vol. 95. — p. 614-617.*
4. *Barrowcliffe TW., Johnson EA., Eggleton CA. et al. Anticoagulation activities of high and low molecular weight fractions. // Br. J. Haematol. — 1979. — vol. 41. — p. 573-583.*
5. *Bosch YPJ., Ganushchak YM., de Jong DS. Comparison of ACT point-of-care measurements: repeatability and agreemant. // Perfusion. — 2006. — vol. 21, N 1. — p. 27-31.*
6. *Bull BS., Huse WM., Brauer FS. et al. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin therapy and protamine dose. // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. — 1975. — vol. 69. — p. 685-689.*
7. *Culliford AT., Gitel SN., Starr N. et al. Lack of correlation between activated clotting time and plasma heparin during cardiopulmonary bypass. // Ann. Surg. — 1981. — vol. 193. — p. 105-111.*
8. *Despotis GJ., Summerfield AL., Joist JH. et al. Comparison of activated coagulation time and whole blood heparin measurements with laboratory plasma anti-Xa heparin concentration in patients having cardiac operations. // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. — 1994. –vol. 1080. — p. 1076-1084.*
9. *Espana P., Ratnoff OD. Activation of Hageman factor (FXII) by sulfatides and other agents in the absence of plasma proteases. // J. Lab. Clin. Med. — 1983. — vol. 102. — p. 31-45.*
10. *Gravlee GP., Whitaker CL., Mark LJ. et al. Baseline activated coagulation time should be measured after surgical incision. // Anesth. Analg. — 1990. — vol. 71. — p. 549-553.*
11. *Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. // JAMA. — 1966. — vol. 196. — p. 150-156.*
12. *Jones K., Nasrallah F., Darling E., Clay N., Searles B. The in vitro effects of aprotinin on twelve different ACT test. // J. Extra Corpor. Technol. — 2004. — vol. 36(1). — p. 51-57.*
13. *Martindale SJ., Shayevitz JR., D'Errico C. The activated coagulation time: suitability for monitoring heparin effect and neutralization during pediatric cardiac surgery. // J. Cardivasc. Vasc. Anesth. — 1996. — vol. 10. — p. 458-463.*
14. *Tofaletti JG., McDonnell E. Comparisons of activated clotting times (ACT) between Hemochron 801 and Helena Actalyke-Max ACT systems. // AACC Symposium: Crit. Care and Point of Care Testing. — 2002. — 12-14 Sept., Monterey, California.*
15. *Uden DL., Seay RE., Kriesmer PL. et al. The effect of heparin on three whole blood activated clotting test and thrombin time. // Am. Soc. Artif. Intern . Organs. — 1991. — vol. 37. — p. 88-91.*
16. *Walenga MJ., Koza MJ., Park SJ. et al. Evaluation of CGP 39393 as the anticoagulant in cardiopulmonary bypass operation in a dog model. // Ann. Thorac. Surg. — 1994. — vol. 58. — p. 1685-1689.*
17. *Wallock ME., Jeske WP., Walenga JM. et al. Evaluation of point-of-care anticoagulation assay: the heparin management test (HMT) during cardiopulmonary bypass. // Clin. Chem. — 1998. — vol. 44, suppl. 6. — p. A70.*
18. *Wang JS., Lin CY., Hung WT. et al. Monitoring of heparin-induced anticoagulation with kaolin-activated clotting time in cardiac surgical patients treated with aprotinin. // Anesthesiology. — 1992. — vol. 77. — p. 1080-1084.*

**Практикум по антитромботической профилактике** **Antithrombotic prophylaxis lessions**

*Рубрика поддержана компанией «ГлаксоСмитКляйн»* *Supported by GlaxoSmithKline*

# ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И РИСК ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

*О. Д. Козлова*

*Городская клиническая больница им. С.П. Боткина, Москва*

# ALTERATIONS OF HEMOSTASIS PARAMETERS AND RISK OF THROMBOEMBOLISM COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH NON-MALIGNANT AND MALIGNANT NEOPLASM

*O. D. Kozlova*

*Botkin's city hospital, Moscow*

Coagulation tests in 100 patients operated on account of non-malignant and malignant neoplasm were investigated. Among the patients having malignant neoplasm in 88% cases hypercoagulation was revealed. It was characterized by contraction of APTV time, reduction of fibrinogen concentration and fibrin monomeries content. Most pronounced shifts revealed in 2-4 days after the operation and most frequent of them were clinically significant postoperative complications; the latter can be based on blood coagulation' manifestation.

***Key words:*** *non-malignant and malignant neoplasm — hypercoagulation — thromboembolism complications.*

## ВВЕДЕНИЕ

Система гемостаза обеспечивает сохранение крови в жидком состоянии в пределах кровеносных сосудов и образование тромбов в области повреждения стенки сосудов [1, 3]. Предтромботическое состояние, или гиперкоагуляция, подразумевает изменения в крови, имеющие важную диагностическую и патологическую значимость для развития тромбоза [4]. Более 100 лет назад Trousseau (1865) отметил склонность больных с новообразованиями к частым венозным тромбозам. Циркулирующие в кровеносном русле раковые клетки не оставляют безучастными факторы гемостаза и тромбоциты. Крупнейший отечественный патолог И. В. Давыдовский говорил: «И доброкачественные, и злокачественные опухоли однонаправлено воздействуют на систему гемостаза, и лишь доза этого воздействия разнится». При этом рост новообразования и система гемостаза могут вступать во взаимодействия по двум направлениям: 1) раковые клетки и рост опухоли активируют систему гемостаза; 2) система гемостаза, некоторые ее факторы (тромбоциты, тромбин, фибрин, образуемые при внутрисосудистой активации системы гемостаза) влияют на рост опухоли, метастазирование и могут привести к тромбогенезу [2].

Клинические исследования выявляют тромбозы у 10–20% больных. Объективными инструментальными и лабораторными методами диагностики в послеоперационном периоде тромбозы выявляются у 50–60 и более процентов больных. Методами лабораторной диагностики у онкологических больных удается выявить скрытые клинически тромбоэмболические осложнения (ТЭО) в послеоперационном периоде, которые возникают с высокой частотой и потенциально опасны в случае не установленного или запоздалого диагноза [2].

Целью исследования явилась оценка изменений коагуляционного звена системы гемостаза у больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями. В задачи исследования входило:

1) изучение динамики показателей системы гемостаза у больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями;

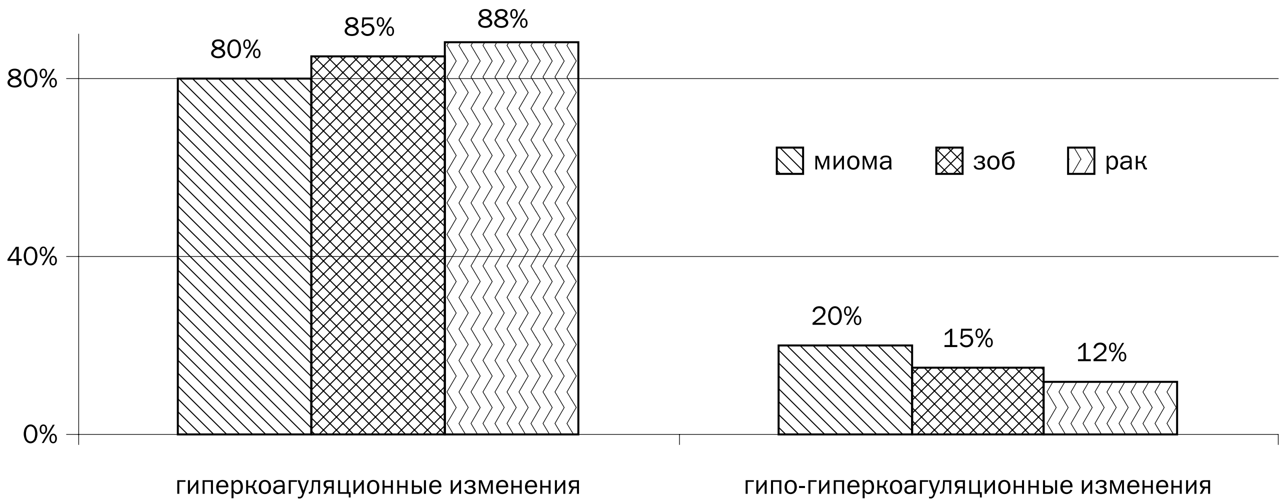



**Рис. 1.** Распределение больных с коагуляционными изменениями в системе гемостаза.

2) исследование системы гемостаза в предоперационном периоде у больных с различными новообразованиями и оценка риск-факторов развития ТЭО;
3) выявление наиболее информативных тестов нарушения системы гемостаза у больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями;
4) анализ системы гемостаза у больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями до и после операции для определения наиболее опасных по тробмоэмболическим осложнениям.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 100 пациентов с новообразованиями. В зависимости от характера заболевания было выделено три группы: 1) с миомами матки (39%); 2) с узловыми образованиями (зоб) в щитовидной железе (29%); 3) со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта (32%). В плазме крови больных до операции, на 3–5 сутки и на 6–12 сутки после операции исследовали параметры гемостаза (АЧТВ, АВР, протромбиновое время, тромбиновое время, РФМК, лизис эуглобулиновой фракции, концентрация фибриногена) на анализаторе показателей гемостаза АПГ-01 «МИНИЛАБ 701» фирмы ЮНИМЕД с использованием реактивов фирмы ООО «Технология-СТАНДАРТ». Статистические расчеты проводили в программе Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех больных были выявлены изменения в коагуляционном звене системы гемостаза, проявлявшиеся гиперкоагуляцией или гипо-гиперкоагуляцией. Состояние гиперкоагуляции определялось, если в пяти из семи проводимых тестов наблюдали изменения в сторону гиперкоагуляции: укорочение времени АЧТВ, уменьшение протромбинового отношения, укорочение тромбинового времени, гиперфибриногенемия, увеличение содержания РФМК.

У больных с миомами матки сдвиги в сторону гиперкоагуляции наблюдали в 80% случаев (**рис. 1**). В этой группе у пациентов АЧТВ составляло 33,5±0,5 сек.; протромбиновое отношение (ПО) — 0,95±0,01; тромбиновое время ТВ — 25,7±0,5 сек.; концентрация фибриногена (Фг) — 4,3±0,1 г/л; РФМК — 5,0±0,5 мг/дл. У больных с зобом щитовидной железы гиперкоагуляционные изменения были установлены в 85% случаев, значения тестов составляли: АЧТВ — 31,2±1,7 сек.; ПО — 0,98±0,01; ТВ — 24,3±1,1 сек.; Фг — 5,2±0,6 г/л; РФМК — 5,2±0,7 мг/дл. Наибольшее количество больных с изменениями в сторону гиперкоагуляции отмечено в 3 группе со злокачественными новообразованиями — 88%. Значения тестов составляли: АЧТВ — 33,3±0,7 сек.; ПО — 0,95±0,01; ТВ — 26,6±0,5 сек.; Фг — 7,4±1,5 г/л; РФМК — 9,3±1,9 мг/дл.

Для оценки информативности каждого теста сопоставляли каждый показатель с клиническим течением заболевания. На **рисунке 2** представлено процентное соотношение больных, у которых установлены изменения тестов в сторону гиперкоагуляции. В 1 группе с миомами матки более чем у 65% больных отмечали гиперкоагуляционные изменения в АЧТВ (33,5±0,5 сек.) и РФМК (5,0±0,5 мг/дл). Во 2 группе с зобом щитовидной железы более чем у 75% пациентов найдены изменения при опре-

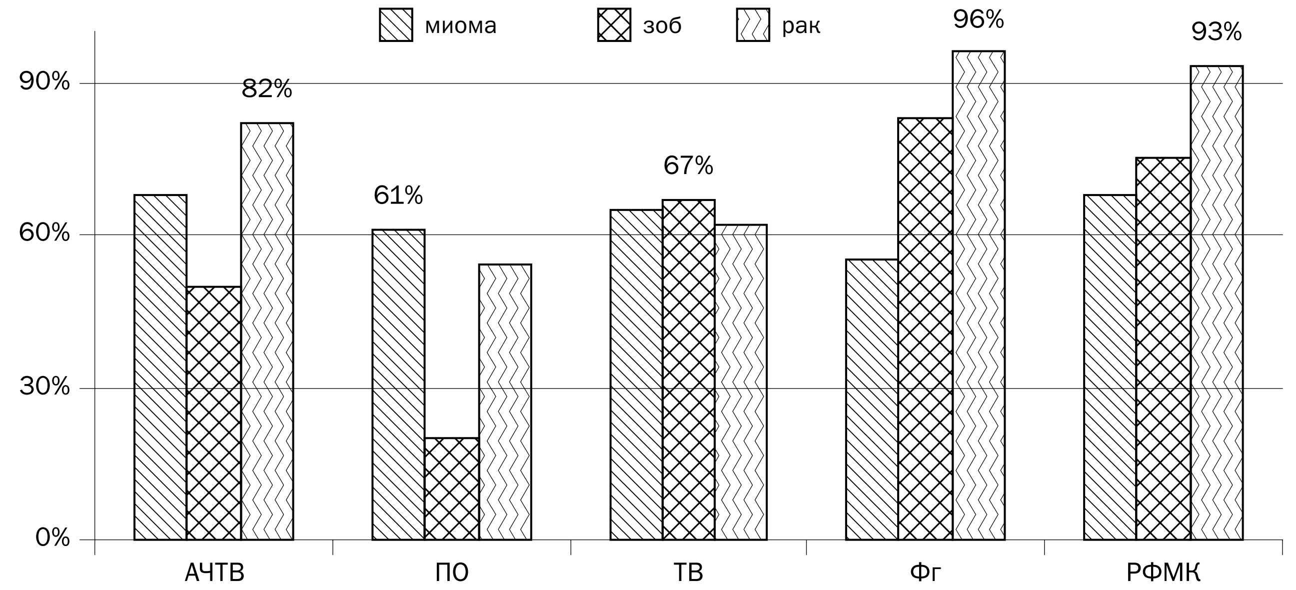



**Рис. 2.** Процентное соотношение пациентов с изменениями в сторону гиперкоагуляции.

делении Фг (5,2±0,6 г/л) и РФМК (5,2±0,7 мг/дл). А в 3 группе со злокачественными новообразованиями более чем у 82% больных выявляли гиперкоагуляционные изменения в АЧТВ (33,3±0,7 сек.), Фг (7,4±1,5 г/л) и РФМК (9,3±1,9 мг/дл).

Для выбора наиболее показательного теста были проанализированы результаты по каждому тесту. Было выявлено укорочение времени АЧТВ во всех группах, то есть усиление протромбиназообразования по внутреннему пути, что могло быть обусловлено появлением в кровотоке увеличенного количества активированных факторов свертывания крови. В данном тесте наиболее были выражены изменения во 2 группе с зобом щитовидной железы. При наблюдении за пациентами до и после операции (**рис. 3**) укорочение времени АЧТВ было отмечено у всех обследованных. Это соответствовало клиническим наблюдениям и свидетельствовало о наиболее вероятном развитии тромбоэмболических осложнений именно в этот период. На 6 сутки нормализацию АЧТВ наблюдали только при доброкачественных новообразованиях, при наличии злокачественных новообразований нормализации АЧТВ не установлено, что могло быть связано с гиподинамией и/или обширностью и тяжестью опухоли.

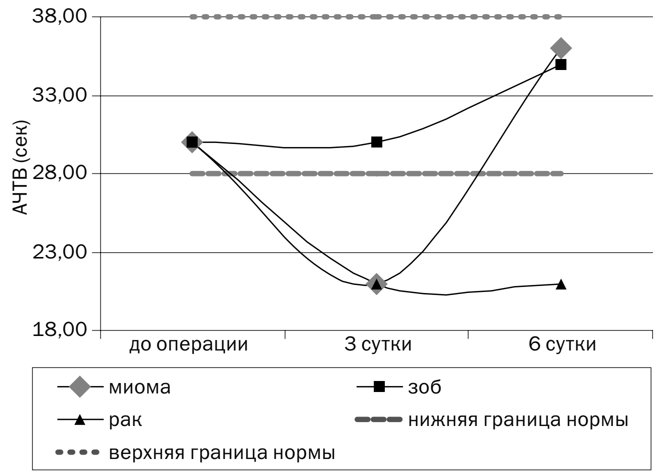



**Рис. 3.** Динамика теста АЧТВ.

Протромбиновое время мы выражали через протромбиновое отношение, при этом гиперкоагуляционные изменения наблюдали во всех группах. Максимальные отклонения от нормы выявлены в группах с миомами матки и при злокачественных новообразованиях. Это связано, по-видимому, с тем, что при локальном характере заболевания у больных 2 группы (зоб щитовидной железы) в системе гемостаза могли отсутствовать существенные сдвиги в сторону гиперкоагуляции за счет протромбиназообразования по внешнему пути. При обширных новообразованиях, таких как миомы матки и злокачественные новообразования, вероятно, происходило потребление факторов свертывания, активация седьмого фактора или выброс высокоактивного тканевого тромбопластина, что сопровождалось усилением протромбиназообразования по внешнему пути.

Тромбиновое время не зависит от внутренней и внешней активации тромбина, а отражает кинетику конечного этапа свертывания — переход фибриногена в фибрин. По результатам тромбинового времени у всех больных отмечали сдвиг в сторону гиперкоагуляции, однако наибольшее отклоне-

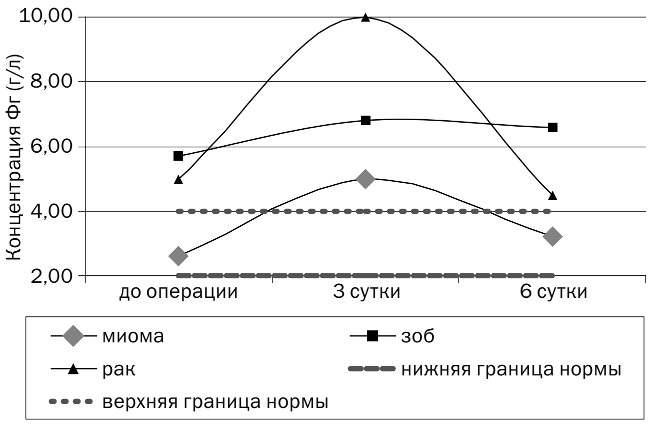



**Рис. 4.** Динамика содержания фибриногена.

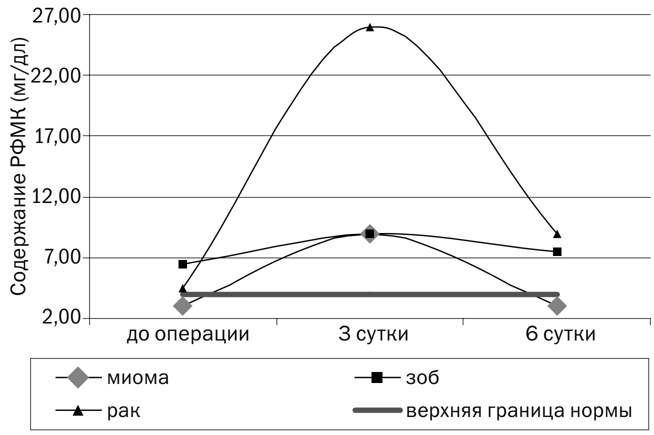



**Рис. 5.** Динамика содержания РФМК.

ние от нормы наблюдали во 2 группе (зоб щитовидной железы). Это могло быть, например, связано со снижением антикоагуляционной активности.

В 3 группе (злокачественные новообразования) была более выражена гиперфибриногенемия по сравнению с пациентами с доброкачественными новообразованиями. Это связано с тем, что большинство больных поступают в клинику с поздними формами рака, и концентрация Фг могла быть увеличена за счет воспалительной компоненты при метастазировании. Обнаружено резкое увеличение содержания Фг на 3 сутки и его снижение на 6 сутки после операции (**рис. 4**).

При активации системы гемостаза в крови появляется тромбин, который действует на фибриноген, в результате чего от него отщепляются фибринопептиды А и В. Одновременно происходит активация фибринолиза с появлением продуктов деградации фибрина и фибриногена и накопление РФМК. Тромбинемию наблюдали у всех пациентов, однако, наибольшее отклонение от нормы установлено у больных со злокачественными новообразованиями. Отмечено нарастание уровня РФМК на 3 сутки и его снижение на 6 сутки после операции (**рис. 5**).

Все больные имели сопутствующие заболевания: варикозное расширение вен нижних конечностей, атеросклероз, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца (ИБС), кардиосклероз, сахарный диабет, ожирение. Все перечисленные заболевания и различные новообразования относятся к клиническим факторам риска тромбообразования.

В группах с доброкачественными новообразованиями отмечали наибольшее количество больных с варикозным расширением вен нижних конечностей — 83%. Возможно, это связано с тем, что эти группы представлены женщинами. В группе со злокачественными новообразованиями различной локализации выявлено наибольшее количество больных с патологическими процессами в сердечно-сосудистой системе: атеросклероз — 56%, ИБС — 56%, гипертоническая болезнь — 54%, кардиосклероз — 69%. Скорее всего, это связано с тем, что данная группа представлена в основном мужчинами пожилого возраста.

Сахарный диабет, как фактор риска тромбообразования, в равной степени был представлен во всех группах. Ожирение было характерно, в основном, для группы со злокачественными новообразованиями. Возможно, это так же связано с тем, что данная группа представлена более пожилыми людьми.

При изменениях системы гемостаза только в сторону гиперкоагуляции отмечали наибольшее разнообразие сопутствующих заболеваний в группах с новообразованиями, а при изменениях в сторону гипер-гипокоагуляции количество сопутствующих заболеваний и их разнообразие резко снижались. Например, в группах с доброкачественными новообразованиями варикозное расширение вен при гиперкоагуляционных изменениях выявлено у 74% пациентов с этим заболеванием, а заболевания сердечно-сосудистой системы у больных со злокачественными новообразованиями встречались в 76% случаев при гиперкоагуляционных изменениях. При гипер-гипокоагуляциооных изменениях ни в одну из групп не вошли больные с ИБС и ожирением. Таким образом, наибольшее количество сопутствующих заболеваний отмечали при гиперкоагуляционных изменениях в системе гемостаза.

Известные клинические факторы позволяют

*Приложение 1.*

# Карта скринингового обследования для прогнозирования и профилактики послеоперационных тромбозов и эмболий.

### 1. Паспортные данные.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ф.ИО | | | |
| № истории болезни | Дата рождения | Полных лет | Пол |
| | | | муж / жен |
| Адрес: | | | |
| Профессия | | Должность | |
| | | | |
| Диагноз: | | | |
| **Операция** | | | |
| № | дата | Вид | |
| | | плановая / экстренная | |
| Название операции: | | | |

**2. Группа риска тромбообразования:** низкий риск, умеренный риск, высокий риск (нужное подчеркнуть)

### 3. Общие вопросы.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1. злоупотребление алкоголем | 2. курение | 3. эмоциональные стрессы | |
| | | | |
| 4. группа крови | 5. ИМТ | 6. АД | 7. АД (повышения до) |
| | | | |
| **Нарушенный режим питания, злоупотребление:** | | | |
| 1. жирной пищей | 2. солью | 3. сахаром | 4. кофе (в зернах) |
| **Климатические факторы:** | | | |
| 1. Увеличение индексов солнечной активности | | 2. Реакция на геомагнитные возмущения | |
| Для женщин. | | | |
| 1. Количество беременностей | 2. Количество родов | 3. Количество абортов | 4. Осложнения после родов (какие) |
| | | | |
| 5. Применение контрацептивов (какие): | | | |

### 4. Наличие клинических факторов риска.

1. Варикозная болезнь нижних конечностей.
2. Ожирение (степень):
3. Ранее перенесенные тромбозы и/или эмболии.
4. Перенесенный острый инфаркт миокарда.
5. Перенесенные острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК).
6. Атеросклероз
7. Сахарный диабет
8. Предыдущие операции
9. Осложнения (если были)
10. Иммобилизированная нижняя конечность.
11. Перенесенные операции на бедре и голени вследствие переломов.
12. Протезирование тазобедренного и коленного суставов.
13. Злокачественные новообразования.
14. Врожденные формы предтромботического состояния.
15. Кровопотери (были ли раньше есть ли сейчас)
16. Инфекционные или аллергические заболевания
17. Нефротический синдром
18. Параксизмальная ночная гемоглобинурия
19. Полицитемия
20. Дегидратация

**5. Лабораторная диагностика системы гемостаза.**

| Тест | До операции | 3 сутки после операции | 6 сутки после операции | Нормальные значения |
|---|---|---|---|---|
| **АЧТВ** | | | | 28–38 сек. |
| **ПВ** | | | | 11–14 сек. |
| **ПИ** | | | | 80–100% |
| **ПО** | | | | 1,00–1,30 |
| **МНО** | | | | 1,00–1,30 |
| **ТВ** | | | | 15–16 сек. |
| **Фибриноген** | | | | 2–4 г/л |
| **РКФМ** | | | | до 4 мг/дл |

классифицировать больных с выделением групп высокого, умеренного и низкого риска развития венозных тромбоэмболических осложнений. Степень риска тесно коррелирует с частотой развития венозного тромбоза и легочной эмболии. По модифицированным данным [5] группу с низким риском развития тромбоэмболических осложнений составляют больные в возрасте до 40 лет, которые могли иметь какие-либо операции, но без осложнений. К группе с умеренным риском относят пациентов в возрасте от 41 до 59 лет, перенесших один инфаркт миокарда и/или перелом голени. В третью группу — высокий риск развития тромбоэмболических осложнений — входят больные, которые имеют более чем три риск-фактора: возраст старше 60 лет; операции с применением комбинированного эндотрахеального наркоза с миорелаксантами длительностью более 45 минут; варикозная болезнь нижних конечностей; тромбофилия; перенесенные операции на бедре, голени, тазобедренном и коленном суставах; ожирение; инсулинозависимый сахарный диабет; тяжелые хронические заболевания, например, сепсис; перенесенные ранее тромбоз и/или тромбоэмболия; новообразования.

Ни один из обследованных пациентов не принадлежал к первой (низкий риск) группе риска тромбоэмболических осложнений. Учитывая тот факт, что все больные были с новообразованиями, они не могут быть отнесены и ко второй группе риска (умеренный риск). Таким образом, все обследованные пациенты относились к третьей группе риска тромбоэмболических осложнений (высокий риск), особенно это касается больных со злокачественными новообразованиями различной локализации. То есть величина факторов риска тромбообразования у больных со злокачественными заболеваниями наибольшая, и представлена у этих больных провоцирующими факторами тромбообразования патологией со стороны сердечно-сосудистой системы и хирургическими вмешательствами. Таким образом, по исследованию коагуляционного звена системы гемостаза при применении скрининговой карты (приложение 1) были выявлены пациенты с высоким риском развития тромбоэмболических осложнений, которым была назначена гепаринотерапия.

## ВЫВОДЫ

1. При злокачественных новообразованиях более ярко проявляются изменения в сторону гиперкоагуляции (88%) по сравнению с доброкачественными опухолями (80 и 85%), однако различия в данной выборке оказались не достоверными.
2. Наиболее показательные тесты исследования системы гемостаза у больных с новообразованиями: АЧТВ, определение концентрации фибриногена и содержания РФМК.
3. У больных с новообразованиями наиболее опасны по тромбоэмболическим осложнениям 3–5 сутки после операции.

## ЛИТЕРАТУРА


1. *Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И. Тлепшуков И.К. Физиология системы гемостаза. — М., 1995.*
2. *Балуда В.П., Балуда М.В., Тлепшуков И.К., Цыб А.Ф. Рак и тромбоз. — Москва-Обнинск, 2000.*
3. *Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед-АО, 1999.*
4. *Гусейнов Ч.С., Тромбозы и фибринолиз в хирургии. — Москва, 1988. — С. 254-273.*
5. *Samama Ch. M., Samama M.M. Prevention of venous thromboembolism // Congress of European Society of Anaesthesiology. — Amsterdam, 1999. — P. 39-43.*