

© В.Г. Желобов, А.В. Агафонов, А.В. Туев

*ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет
им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России*

г. Пермь, Россия

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ АПЛАСТИЧЕСКИХ АНЕМИЯХ

Аннотация. Показатели коагуляционного гемостаза, липидной пероксидации и эндотелий зависимая вазодилатация исследованы у 18 больных апластической анемией. Гемическая гипоксия, присущая анемии, сопровождается активацией свободно-радикального окисления липидов – увеличением концентрации малонового диальдегида плазмы и уменьшением антиокислительного потенциала крови. Оксидативный стресс приводит к системному поражению эндотелия, проявляющемуся снижением релаксирующих свойств эндотелия сосудов, и активации системы гемостаза, представленной гипокоагуляцией по внутреннему механизму, угнетением плазминовой системы и увеличением концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов. Развитие апластической анемии сопровождается развитием метаболического дисбаланса, дисфункцией эндотелия, что, в конечном итоге, приводит к нарушениям со стороны свертывания крови.

Ключевые слова: апластическая анемия, гемическая гипоксия, оксидативный стресс, дисфункция эндотелия, нарушения коагуляционного гемостаза.

© V.G. Zhelobov, A.V. Agafonov, A.V. Tuev

Perm State Medical University named after E.A. Wagner

Perm, Russia

MECHANISMS OF THE DISTURBANCES OF COAGULATION HEMOSTASIS IN APLASTIC ANEMIAS

Abstract. The indices of coagulation hemostasis, lipid peroxidation and endothelium-dependent vasodilation were studied in 18 patients with aplastic anemia. Hemic hypoxia which is usually present in case of anemia is accompanied by the activation of lipid peroxidation – the increase of the concentration of plasma malondialdehyde and the decrease of antioxidative blood potential. The oxidative stress leads to a systemic damage of the endothelium, manifested in the decrease of relaxing properties of the vascular endothelium and activation of the system of hemostasis manifested in hypocoagulation under the inner mechanism, suppression of the plasma system and the increase of the concentration of soluble fibrin complexes. The development of aplastic anemia is accompanied by a metabolic imbalance, endothelium dysfunction and leads to the disturbances of blood coagulation.

Keywords: aplastic anemia, hemic hypoxia, oxidative stress, endothelium dysfunction, coagulation hemostasis disturbances.

Механизмы нарушений в системе свертывания крови при опухолевых заболеваниях кроветворной системы достаточно понятны. При лейкозах опухолевые клетки способны продуцировать большое количество тканевого тромбопластина. Активация свободно-радикального окисления, присущая лейкозам [2,5], сопровождается повреждением эндотелия сосудов с активацией свертывания крови как по внешнему, так и по внутреннему механизмам. Что же касается анемических состояний, то при них причины гемостазных расстройств остаются недостаточно выясненными [1,3,4].

Целью настоящего исследования явилось изучение состояния коагуляционного гемостаза при апластических анемиях (АА).

Материалы и методы. Обследовано 18 больных с анемиями, обусловленными костномозговой недостаточностью. Диагностическими критериями апластической анемии являлись трехростковая цитопения, ретикулоцитопения при исследовании периферической крови и обнаружение жировой трансформации при гистологическом исследовании костного мозга. Из клинических проявлений диагностическое значение имели геморрагический синдром и симптомокомплекс инфекционных осложнений.

В исследование включались пациенты старше 30 лет. Средний возраст группы пациентов с АА составил $46,7 \pm 6,3$ года.

Контрольные показатели оценены у 25 практически здоровых лиц: 15 мужчин и 13 женщин в возрасте от 30 до 65 лет. Средний возраст группы сравнения составил $42,9 \pm 4,68$ года, что сопоставимо с возрастом больных исследуемой группы.

Всем обследуемым, кроме исследования общего анализа крови, проводилась оценка перекисного окисления липидов (ПОЛ), исследование основных показателей системы гемостаза и сосудодвигательной функции эндотелия.

ПОЛ оценивали по тесту с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-тест), который является одним из наиболее распространенных методов определения продуктов липидной пероксидации.

Оценка коагуляционного звена свертывающей системы крови производилась с помощью аутокоагуляционного теста (АКТ₁₀), активированного частично (парциально) тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПТВ), концентрации фибриногена (ФГ).

Скрининговым методом оценки активности системы фибринолиза является исследование инициации плазминовой системы по внутреннему механизму – XIIa-калликреин-зависимый фибринолиз (ХЗФ).

С целью выявления лабораторных признаков синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) исследовались этаноловый и протамин-сульфатный тесты и концентрация растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК).

Нарушение сосудодвигательной функции эндотелия, по наличию которого судили о существовании эндотелиальной дисфункции, оценивали на ультразвуковом аппарате SONOS–4500 (фирмы “HewlettPackard” США) линейным датчиком 5,5-7,5 МГц по методике Celermajer и соавт. [7].

Статистическая обработка полученных данных проводилась на IBM/PC/Pentium 4 с помощью пакета статистических программ «STATISTICA 6,0 for Windows». Для средних величин приведены значения стандартной ошибки. Оценка достоверности различий средних величин осуществлялась с помощью t- критерия Стьюдента. Достоверными считались различия при степени вероятности безошибочного прогноза не менее 95% ($p < 0,05$). Для вычисления взаимосвязи между различными показателями была использована методика линейного корреляционного анализа с оценкой достоверности полученных коэффициентов корреляции.

Результаты и обсуждение. Гемостаз больных анемиями вследствие костномозговой недостаточности помимо закономерного уменьшения количества тромбоцитов характеризовался разнонаправленными сдвигами в коагуляционном звене (табл. 1). АКТ при этом варианте анемий был достоверно продолжительнее контрольных значений ($p=0,046$). АПТВ, наоборот, существенно короче аналогичного показателя группы сравнения ($p=0,0001$).

Изменения были зафиксированы и со стороны внешнего механизма свертывания крови. ПТВ при АА было достоверно длиннее ($p=0,0004$) по сравнению с контрольными показателями.

Достоверное удлинение ХЗФ при АА до $18,47 \pm 3,13$ мин. ($p=0,0006$) указывает на выраженное угнетение фибринолиза в этой группе больных.

Таблица 1.

Показатели системы гемостаза больных АА ($M \pm m$)

Показатель	Группа сравнения n=25	Группа наблюдения (больные АА) n=18	p
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$190,8 \pm 11,5$	$37,3 \pm 3,2$	0,00006
САТ, %	$28,32 \pm 1,12$	$28,00 \pm 1,92$	>0,1
АКТ ₁₀ , сек	$10,31 \pm 0,20$	$11,07 \pm 0,39$	0,046
АПТВ, сек	$43,37 \pm 0,39$	$37,07 \pm 1,02$	0,0001
ПТВ, сек	$16,42 \pm 0,18$	$18,33 \pm 0,37$	0,0004
Фибриноген, г/л	$3,42 \pm 0,11$	$3,76 \pm 0,18$	>0,05
ХЗФ, мин.	$10,37 \pm 0,41$	$18,47 \pm 3,13$	0,006

p- достоверность различий показателей с группой сравнения.

Зависимость показателей гемостаза при АА от продолжительности болезни представлена в таблице 2.

В группе больных АА продолжительность заболевания более 1 года характеризовалась меньшим количеством тромбоцитов по сравнению с группой пациентов с меньшим «стажем» патологического процесса ($p=0,032$).

Таблица 2.

Показатели гемостаза при АА в зависимости от продолжительности заболевания (M±m)

Показатель	Продолжительность заболевания		р
	менее 1 года n=9	более 1 года n=9	
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	44,2±6,7	30,8±4,2	0,032
САТ, %	29,07±1,64	26,51±1,96	>0,05
АКТ ₁₀ , сек.	10,37±0,40	11,26±0,32	0,043
АПТВ, сек.	36,12±0,93	40,38±1,12	0,031
ПТВ, сек.	16,92±0,44	19,07±0,51	0,041
Фибриноген, г/л	4,05±0,19	3,41±0,21	0,038
ХЗФ, мин.	11,82±3,56	19,15±2,69	0,035

р- достоверность различий показателей в зависимости от продолжительности болезни.

При АА значительные изменения, обусловленные продолжительностью болезни, выявлены со стороны коагуляционного гемостаза. АКТ и АПТВ у больных с большим анамнезом анемии были достоверно продолжительнее, чем у пациентов с впервые установленным диагнозом ($p=0,043$ и $p=0,031$). Аналогичные по направленности изменения были обнаружены и со стороны лабораторных тестов, маркирующих внешнее звено гемокоагуляции. ПТВ длительно болеющих было существенно длиннее аналогичного теста в группе больных с «коротким» анамнезом ($p=0,041$).

С увеличением продолжительности болезни уменьшилась концентрация фибриногена ($p=0,038$), тогда как время ХЗФ достоверно увеличивается ($p=0,035$). Последнее обстоятельство указывает на угнетение фибринолиза, которое усугубляется по мере увеличения продолжительности заболевания [6].

Исследование концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов при апластических анемиях выявило их увеличение у 5 больных, что составляет 27,7%. Это обстоятельство указывает, что у части больных АА имеют место лабораторные признаки хронического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Изменение активности процессов ПОЛ проявлялось увеличением концентрации малонового диальдегида (МДА) плазмы и уменьшением МДА эритроцитов при АА (табл.3). Антиокислительная активность крови (АОА) как при тяжелом, так и при крайне тяжелом течении АА, была ниже уровня здоровых лиц.

Таблица 3.

Показатели липидной пероксидации больных АА в (M±m)

Показатель	Группа сравнения (здоровые) (n=25)	Группа наблюдения (больные АА) (n=18)	p
МДА пл., нмоль/мл	0,99±0,06	1,24±0,24	0,0035
МДА эр., нмоль/мл	3,56±0,18	3,06±0,28	0,008
АОА пл.,%	55,52±2,62	35,17±4,7	0,0005
АОА эр.,%	59,25±2,90	23,42±4,75	0,0005

p – достоверность различий показателей больных АА с группой сравнения.

При статистической обработке полученной информации выявлена отрицательная связь средней силы между концентрацией фибриногена и возрастом ($r=-0,46$, $p=0,039$), а также между уровнем фибриногена и продолжительностью заболевания ($r=-0,51$, $p=0,036$).

Продолжительность болезни прямо коррелировала с длительностью АПТВ ($r=0,54$, $p=0,009$), ПТВ ($r=0,49$, $p=0,038$) и ХЗФ ($r=0,51$, $p=0,036$).

Показатели вазодилатирующей функции эндотелия больных апластической анемией были значительно ниже, чем в контрольной группе.

Прирост диаметра плечевой артерии в ответ на реактивную гиперемия составил $8,35 \pm 2,69\%$, что достоверно меньше, чем в группе сравнения – $17,19 \pm 3,64\%$ ($p=0,0006$).

Степень ЭД при АА имеет позитивную достоверную связь с концентрацией гемоглобина ($r=0,81$, $p=0,004$).

Влияние дисбаланса системы ПОЛ-АОА на функцию эндотелия подтверждается обнаружением негативных взаимоотношений между ЭЗВД и концентрацией МДА плазмы и эритроцитов ($r=-0,55$, $p=0,009$ и $r=-0,66$, $p=0,007$) и позитивной связью эндотелиальной дисфункции и антиокислительным потенциалом плазмы крови ($r=0,83$, $p=0,004$)

Выводы:

1. Развитие апластической анемии сопровождается формированием метаболического дисбаланса, проявляющегося снижением антиокислительного потенциала плазмы и эритроцитов, причем существенный вклад в формирование этого процесса вносят степень тяжести анемии, а значит выраженность гемической гипоксии.

2. Гемическая гипоксия и метаболическая дезорганизация «включают» цепную реакцию, приводящую к системному поражению эндотелия с нарушением его вазодилатирующей функции и, возможно, способности к выработке биологически активных веществ, принимающих участие в процессах свертывания крови.

3. Нарушения в системе коагуляционного гемостаза имеют место при апластической анемии и проявляются разнонаправленными сдвигами показателей, представляющих коагуляционное звено гемостаза, а также угнетением плазминовой системы.

4. Выявленные при анемиях изменения гемостаза можно трактовать как маркер внутрисосудистого свертывания, которое в той или иной мере

присутствует при анемиях, связанных с костномозговой недостаточностью эритронов.

Список литературы:

1. Головин А.А. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе железодефицитных анемий / А.А. Головин, В.Д. Конвай // Терапевтический архив. – 1991. – № 2. – С. 85–87.
2. Желобов В.Г. Патогенетические аспекты нарушений гемостаза при хронических лейкозах / В.Г. Желобов, Л.А. Некрутенко, Н.И. Зозуля // Пермский медицинский журнал. – 2003. – № 3. – С. 145–150.
3. Копина М.Н. Гиперкоагуляционные нарушения гемостаза у больных впервые выявленной железодефицитной анемией / М.Н. Копина, Ю.Г. Гаевский // Вестник Новгородского государственного университета. – 2013. – № 7. – С. 21–24.
4. Литвицкий П.Ф. Свободно-радикальные процессы у больных железодефицитными анемиями / П.Ф. Литвицкий и др. // Клиническая патофизиология. – 2006. – № 1. – С. 10–14.
5. Туев А.В. Метаболическая дезорганизация и эндотелиальная дисфункция при множественной миеломе / А.В. Туев, Л.А. Некрутенко, В.Г. Желобов // Пермский медицинский журнал. – 2011. – № 6. – С. 90–94.
6. Шишина Р.М. Состояние системы гемостаза у больных апластической анемией в период развернутых клинических проявлений болезни / Р.М. Шишина и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 5. – С. 34–37.
7. Celermajer D.S. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D.S. Celermajer, K.E. Sorensen, V.M. Gooch // Lancet. – 1992. – Вып. 340, № 8828. – С. 1111–1115.

References

1. Golovin A.A. Rol' perekisnogo okisleniya lipidov v patogeneze zhelezodefitsitnykh anemiy / A.A. Golovin, V.D. Konvay [Role of lipid

peroxidation in the pathogenesis of iron-deficient anemia]. *Terapevticheskiy arkhiv*, 1991, no. 2, pp. 85–87 (in Russian).

2. Zhelobov V.G. Patogeneticheskie aspekty narusheniy gemostaza pri khronicheskikh leykozakh / V.G. Zhelobov, L.A. Nekrutenko, N.I. Zozulya [Pathogenetic aspects of hemostasis disturbances in chronic leukosis]. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*, 2003, no. 3, pp. 145–150 (in Russian).

3. Kopina M.N. Giperkoagulyatsionnye narusheniya gemostaza u bol'nykh vpervye vyyavlennoy zhelezodefitsitnoy anemiei / M.N. Kopina, Yu.G. Gaevskiy [Hypercoagulation hemostasis disturbances in patients with primary iron-deficient anemia]. *Vestnik Novgorodskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2013, no. 7, pp. 21–24 (in Russian).

4. Litvitskiy P.F. Svobodno-radikal'nye protsessy u bol'nykh zhelezodefitsitnymi anemiyami [Free-radical processes in patients with iron-deficient anemia]. *Klinicheskaya patofiziologiya*, 2006, no. 1, pp. 10–14 (in Russian).

5. Tuev A.V. Metabolicheskaya dezorganizatsiya i endotelial'naya disfunktsiya pri mnozhestvennoy mielome / A.V. Tuev, L.A. Nekrutenko, V.G. Zhelobov [Metabolic disorganization and endothelial dysfunction in multiple myeloma]. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*, 2011, no. 6, pp. 90–94 (in Russian).

6. Shishina R.M. Sostoyanie sistemy gemostaza u bol'nykh aplasticheskoy anemiei v period razvernutykh klinicheskikh proyavleniy bolezni / R.M. Shishina i dr. [Condition of the system of hemostasis in patients with aplastic anemia at the period of developed clinical manifestations]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2012, no. 5, pp. 34–37 (in Russian).

7. Celermajer D.S. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D.S. Celermajer, K.E. Sorensen, V.M. Gooch. *Lancet*, 1992, vol. 340, no. 8828, pp. 1111–1115.

Желобов Владимир Геннадьевич, д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера МЗ РФ, тел. (342)217-09-05, e-mail: Zhelobov.VG@psma.ru

Агафонов Александр Валерьевич, д.м.н., профессор кафедры госпитальной терапии. ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера МЗ РФ, e-mail: a.agafonov@list.ru, тел. – (342)239-31-80.

Туев Александр Васильевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии. ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера МЗ РФ, тел. (342)239-31-80

ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А.Вагнера» Минздрава России, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Петropавловская, д.26.

Zhelobov Vladimir Gennadyevich - Doctor of Medical Science, professor of the department of hospital therapy, Perm State Medical University named after E.A. Wagner; phone: 217-09-05, e-mail: Zhelobov. VG@psma.ru

Agafonov Aleksandr Valeryevich - Doctor of Medical Science, professor of the department of hospital therapy, Perm State Medical University named after E.A. Wagner; phone: (342)239-31-80, e-mail: a.agafonov@list.ru

Tuev Aleksandr Vasilyevich - Doctor of Medical Science, head of the department of hospital therapy, Perm State Medical University named after E.A. Wagner; phone: (342)239-31-80

State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Training “Perm State Medical University named after E.A. Wagner” of the Ministry of Health of the RF, 614990, Russia, Perm, 26, Petropavlovskaya Str.